N° d'ordre : 4270

THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE BORDEAUX I

École Doctorale Sciences et Environnements

Par M Laurent LANCELEUR

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Géochimie et Écotoxicologie

L'argent : sources, transfert et bioaccumulation
- Cas du système fluvio-estuarien girondin -

Soutenue le : 14 juin 2011

Après avis de :

M Marc BENEDETTI, Professeur, Université Paris Diderot Paris 7	Rapporteur
Mme Frédérique EYROLLE, Chercheur HDR, IRSN, Cadarache	Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

M Marc BENEDETTI, Professeur, Université Paris Diderot Paris 7	Rapporteur
M Gérard BLANC, Professeur, Université Bordeaux 1	Directeur de thèse
M Jean-François CHIFFOLEAU, Chercheur, LBCM, Ifremer Nantes	Invité
Mme Frédérique EYROLLE, Chercheur HDR, IRSN, Cadarache	Rapporteur
M Cédric GARNIER, Maître de Conférences HDR, Université du Sud Toulon-Var	Examinateur
M Antoine GRÉMARE, Professeur, Université Bordeaux 1	Président
M Pierre MIRAMAND, Professeur, Université de La Rochelle	Examinateur
M Jörg SCHÄFER, Professeur, Université Bordeaux 1	Directeur de thèse

N° d'ordre : 4270

THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE BORDEAUX I

École Doctorale Sciences et Environnements

Par M Laurent LANCELEUR

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Géochimie et Écotoxicologie

L'argent : sources, transfert et bioaccumulation
- Cas du système fluvio-estuarien girondin -

Soutenue le : 14 juin 2011

Après avis de :

M Marc BENEDETTI, Professeur, Université Paris Diderot Paris 7	Rapporteur
Mme Frédérique EYROLLE, Chercheur HDR, IRSN, Cadarache	Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

M Marc BENEDETTI, Professeur, Université Paris Diderot Paris 7	Rapporteur
M Gérard BLANC, Professeur, Université Bordeaux 1	Directeur de thèse
M Jean-François CHIFFOLEAU, Chercheur, LBCM, Ifremer Nantes	Invité
Mme Frédérique EYROLLE, Chercheur HDR, IRSN, Cadarache	Rapporteur
M Cédric GARNIER, Maître de Conférences HDR, Université du Sud Toulon-Var	Examinateur
M Antoine GRÉMARE, Professeur, Université Bordeaux 1	Président
M Pierre MIRAMAND, Professeur, Université de La Rochelle	Examinateur
M Jörg SCHÄFER, Professeur, Université Bordeaux 1	Directeur de thèse

Remerciements

Je tiens à remercier vivement les directeurs du laboratoire EPOC, Philippe Bertrand et Antoine Grémare, ainsi que le directeur responsable de l'équipe GEMA/TGM, Gérard Blanc, pour m'avoir accueilli et permis la réalisation de ce projet pluri disciplinaires.

Je tiens à adresser mes remerciements à l'Agence Nationale de la Recherche qui a financé le projet EEL-scope (ANR-07-VULN-03) dans le cadre duquel s'est déroulée cette thèse et qui en a permis la réalisation dans d'excellentes conditions.

J'exprime toute ma reconnaissance aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et qui ont été à l'origine d'une discussion riche en perspectives. Je remercie Antoine Grémare d'avoir présidé le jury et animé les discussions. Un grand merci à Marc Benedetti et Frédérique Eyrolle d'avoir accepté de rapporter mon travail. Enfin, je remercie Jean-François Chiffoleau, Cédric Garnier et Pierre Miramand de l'avoir examiné.

Je tiens à remercier tout particulièrement Jean-François Chiffoleau qui a non seulement participé au jury mais m'a aussi fourni son appui scientifique dès le début de la thèse.

Je tiens à remercier sincèrement mes directeurs de thèse, Jörg Schäfer et Gérard Blanc, pour leur disponibilité, leurs conseils et leur confiance, d'un point de vue professionnel et personnel. Comme vous l'aviez dit au début de la thèse : « trois ans, ça passe vite ! » - avec le recul, vous aviez raison - mais à vivre, c'était différent ! Pour mener à bien ce projet j'ai pu compter sur votre aide :

- Jörg, merci pour ton soutien permanent, de la chimie à la mécanique, du laboratoire aux conférences et jusqu'aux missions de terrain, des enseignements à l'encadrement des stagiaires, de l'écriture des papiers à la correction de mon accent anglais incroyable, des kebabs du Bereket aux hamburgers de New York … Bref, merci pour tout ! Merci d'avoir pris le risque de recruter un biologiste et d'avoir eu la patience de le former à la géochimie. Tes qualités pédagogiques et scientifiques mettent la barre très haute. J'ai eu beaucoup de chance d'être encadré par quelqu'un comme toi.

- Gérard, merci pour votre enthousiasme, pour m'avoir proposé d'être moniteur et d'enseigner en géosciences depuis la Licence jusqu'au Master, pour m'avoir encouragé à me proposer comme représentant des étudiants au conseil de l'UFR, pour avoir accepté que je suive le Nouveau Chapitre de la Thèse, ou encore pour m'avoir toujours encouragé à participer à des conférences, même au fin fond de la Pologne ! Bien que ces activités étaient annexes à la thèse, j'y ai énormément appris grâce à vous.

Mes remerciements vont tout droit à ceux qui ont permis l'aboutissement de ce travail en y participant de près ou de loin :

- toute l'équipe « Transferts Géochimiques des Métaux à l'interface continent-océan » : Gilbert, Cécile, Alex, Jean-Pierre, Emilie, Hervé, Ha, Lionel. Merci pour votre aide précieuse au laboratoire ou sur le terrain, votre bonne humeur et pour le rendez-vous « café » chaque matin.
- mes compagnons de terrain, de dissection, de mise en cage des anguilles, de pêche etc. qui ont participé au projet EEL-scope : Françoise, Magalie, Karyn, Sophie, Julie, Mélissa, Nathalie, Véro, Patrice et Julien. Une mention spéciale pour Julien, en mon nom et au nom du projet EEL-scope, qui a effectué un travail extraordinaire pour permettre la réalisation et le suivi des expérimentations de terrain (entre autres) et ceci avec une bonne humeur exemplaire ! Merci pour ton aide et désolé de t'avoir arrosé si souvent (En fait non ! C'est un bon souvenir !).

- les stagiaires que j'ai pu co-encadrer : Sabine, Edouard, Franziska et Lamya.
- les marins, capitaines et mécanos des bateaux océanographiques de l'INSU « Côtes de la Manche » et « Côte d'Aquitaine » et tout particulièrement à Renaud pour sa gentillesse et sa sagesse.

Mes remerciements s'adressent également aux personnes de l'UMR qui ont été des soutiens extérieurs: George, Henri, Mireille, Marie Odile, Nicole et Cathy. Merci pour votre gentillesse et votre aide.

Des remerciements évidemment sous développés, car sans détails inavouables, de peur de mettre en péril une crédibilité encore fragile :
- à mes copains de bureau, pour leur amitié, leur patience, leur gentillesse mais aussi et surtout pour leur folie : Sabine, Aymeric, Matthieu, Naïg et Aurélie. Je vous adore. Tous. Sauf un(e) peut-être…héhé. Non. Tous.
- aux « copains d'Arcachon », tous aussi fous : Corine, Ika, Nico, Cerise, Cécile, Let, Hugues, Béa, Lilou et la ptite dernière Julie.
- aux thésards du labo, euh…fous eux aussi, mais moins… : Marion, Loïc, Marie-lise, Laurie, Aurélie, Sam, Thibault, Florent et Ben.

Enfin, je remercie du fond du cœur ceux qui ont vécu le peu d'heures libres qu'il me restait avec patience et en montrant un soutien sans faille, ceux qui ont supporté les coups de stress et les horaires flexibles : mes parents (les 4), mes frères (les 4 là aussi) et ma sœur, ma belle famille, Jacques et bien entendu ceux qui ont été présents au quotidien : ma compagne Adeline et Thomas, qui ont, avec beaucoup d'amour (à ce point ça n'est plus de la patience !), fait en sorte que ce travail se déroule dans les meilleures conditions pour moi.

Merci.

L'argent : sources, transfert et bioaccumulation - Cas du système fluvio-estuarien girondin

Les rejets d'argent (Ag) dans l'environnement liés à l'exploitation minière aux diverses applications industrielles (e.g. bijouterie, médecine, photographie, électronique et plus récemment les nanotechnologies) font de Ag un polluant historique et émergent, dont les transferts et les effets dans les milieux aquatiques sont largement sous-documentés. Ce travail présente un premier bilan des sources, du transfert et de la bioaccumulation de Ag dans le système fluvio-estuarien de la Gironde. Le continuum Lot-Garonne-Gironde, connu pour une pollution polymétallique (e.g. Cd, Zn) provenant du bassin de Decazeville, est un système modèle pour l'étude des transferts métalliques du continent à l'océan. Les enregistrements des signaux historiques (~50 ans) de Ag dans les sédiments du Lot en amont (Ag : 0,3 mg/kg) et en aval (Ag : jusqu'à 7 mg/kg) du bassin de Decazeville sont similaires à ceux de Cd, indiquant des sources et des processus de transport/dépôt communs liés à l'histoire minière et industrielle jusqu'en 1986. Le lessivage et l'érosion actuels des terrils provoquent localement des concentrations en Ag particulaire (Ag_P : 260 mg/kg) et dissous (Ag_D : 1260 ng/l) dans la rivière Riou-Mort qui sont 2 à 3 ordres de grandeur supérieures aux valeurs typiques. Malgré ces fortes concentrations, la contribution du Riou-Mort aux flux de Ag de la Garonne (Ag_D : 0,008 à 0,041 t/an ; Ag_P : 0,306 à 2,44 t/an ; 1999-2009) reste faible (Ag_P : <11% ; Ag_D : <6%). La Garonne transporte l'essentiel (63-83%) des apports en Ag à l'estuaire principalement sous forme particulaire (96±2%). La détermination du bruit de fond géochimique régional (Ag_P/Th_P=0,026) a permis d'évaluer (i) la contribution naturelle (20% à 65%) aux flux totaux en Ag_P et (ii) les flux anthropiques spécifiques de Ag_P (15±10 g/km²/an et 0,24±0,16 g/hab/an) à l'échelle du bassin versant de la Garonne (La Réole). Dans l'estuaire salin, la désorption par les ions chlorures libère ~60% de Ag_P vers la colonne d'eau (addition), provoquant des concentrations maximales en Ag_D (6-8 ng/l) à salinité 15-25. La fraction en Ag désorbé correspond à la fraction potentiellement biodisponible ou réactive (i.e. extractible par HCl 1 M). Ainsi, les premières estimations des flux nets indiquent que l'export annuel de Ag vers le domaine côtier est à 50-80% lié à la phase dissoute (0,64 à 0,89 t/an en 2008 et 0,56 à 0,77 t/an en 2009). Bien que plus biodisponible sous forme ionique Ag^+ (dominante en eau douce), l'accumulation de Ag dans les organismes estuariens (huîtres, crevettes et anguilles) reflète la pression d'exposition supérieure en eau saumâtre. L'exposition *in situ* d'anguilles européennes, espèce recommandée pour la biosurveillance du milieu dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau, dans des cages à différents sites clé de l'estuaire pendant 3 mois, a mis en évidence les voies directes et trophiques de la contamination en Ag à des niveaux de contamination environnementaux. L'enregistrement historique de la contamination en Ag des huîtres de la Gironde (1979-2007, RNO, Ifremer) indique que le bassin de Decazeville a été la source majoritaire en Ag jusqu'en ~1988. Cependant, l'accumulation maximale de Ag dans ces bivalves après 1993 (de ~40 à plus de 100 mg/kg, poids sec) révèle une contribution croissante de sources additionnelles et contemporaines en Ag comme la photographie, l'ensemencement des nuages (30 à 63 kg/an) ou encore les rejets des eaux usées urbaines de Toulouse et de Bordeaux (42 et 57 kg/an). Ce travail constitue une base nécessaire à l'étude des rejets du cycle de Ag (y compris les nanoparticules) dans le milieu aquatique (quantification, transfert et toxicité) et des risques associés.

***Mots clés** : argent, particulaire, dissous, rivière, estuaire, flux, bioaccumulation*

Silver: sources, transfer and bioaccumulation – Case of the Gironde fluvio-estuarine system

Silver (Ag) emissions into the environment from former mining activities and various industrial applications (e.g. jewellery, medicine, photography, electronic products and more recently nanotechnology) make Ag both a historic and an emergent pollutant for which information on its transfer and toxicity in aquatic system are scarce. This work provides a first assessment of Ag sources, transfer and bioaccumulation in the Gironde fluvial-estuarine system. The Lot-Garonne-Gironde River continuum, known for its polymetallic pollution (e.g. Cd, Zn) derived from the Decazeville basin, is a model system for studies on metal transfer from watersheds to the ocean. The relationship between historical records (~50 years) of Ag concentrations in sediment cores from the Lot River, upstream (Ag: 0.3 mg/kg) and downstream (Ag: up to 7 mg/kg) of the Decazeville basin and those of Cd constitutes evidence of a common source and transport/settlement processes due to industrial activities until 1986. High particulate Ag (Ag_P: 260 mg/kg) and dissolved Ag (Ag_D: 1,260 ng/l) concentrations in the Riou-Mort River were attributed to current leaching and erosion of slag heaps by rainwater. Those concentrations were 2 to 3 orders of magnitude greater than typical values in the Gironde watershed. However, the Riou-Mort River contribution to the Garonne River Ag fluxes (Ag_D: 0.008-0.041 t/a; Ag_P: 0.306-2.44 t/an; 1999-2009) remained low (Ag_P: <11%; Ag_D: <6%). The Garonne River provided the quasi totality (63-83%) of Ag inputs to the estuary, mainly in its particulate form (96±2%). The regional geochemical background (Ag_P/Th_P=0.026) was useful to estimate (i) the natural contribution (20-65%) to total Ag_P fluxes and (ii) the anthropogenic specific fluxes of Ag_P (15±10 g/km²/a and 0.24±0.16 g/hab/a) in the Garonne watershed (La Réole). In the estuarine salinity, chloro-complexation desorbed ~60% of Ag_P, causing maximalum Ag_D concentrations (6-8 ng/l) at salinity 15-25 (addition to the dissolved phase). This quantity was similar to the potentially bioavailable or reactive fraction (i.e. extracted by HCl 1 M). The first estimations of net fluxes suggested that 50-80% of the Ag annual export to the coast occurred in the dissolved phase (0.64-0.89 t/a in 2008 and 0.56-0.77 t/a in 2009). Even if the ionic form Ag^+ (the main form in freshwater) is considered as the most bioavailable form, Ag accumulation in estuarine organisms (oysters, shrimps and eels) reflected the higher exposition pressure in brackish water. *In-situ* caging of European Eels (recommended species for the biosurvey of aquatic systems; European Water Framework Directive) in key sites of the Gironde Estuary during 3 months, highlighted the direct and trophic pathways of Ag contamination at the environmental level. The historical record of Ag contamination of the Gironde Estuary oysters (1979-2007, French Mussel Watch, RNO) indicated that the Decazeville basin was a major Ag source until ~1988. However, the maximum Ag accumulation in oysters after 1993 (from ~40 to more than 100 mg/kg, dry weight) suggested an increasing contribution of additional and contemporary Ag sources like photography, cloud seeding (30-63 kg/a) or Toulouse and Bordeaux wastewater effluents (42-57 kg/a). This work is a basis for future work on Ag (including nanoparticles) cycles and related risks in aquatic systems (quantification, transfer and toxicity).

***Keywords** : silver, particulate, dissolved, river, estuary, flux, bioaccumulation*

Sommaire

Introduction 1

Chapitre 1 : Contexte scientifique

1.1. L'argent (Ag), d'un polluant historique à un polluant émergent 9

1.1.1. Production mondiale en Ag 9
1.1.2. Secteurs d'application et demande mondiale de Ag 11
1.1.3. Les sources en Ag pour l'environnement 12
1.1.4. Cycle biogéochimique de Ag dans les milieux aquatiques à l'interface continent-océan. 16
1.1.5. Toxicité de Ag pour les organismes et bioaccumulation 19
1.1.5.a. La toxicité de Ag 19
1.1.5.b. Différences interspécifiques de l'accumulation de Ag en comparaison de Cd, exemple des huîtres et des moules 22
1.1.5.c. Exposition humaine et normes d'exposition 25
1.1.6. L'essor du nano-argent 25

1.2. L'estuaire de la Gironde, un modèle de terrain idéal pour l'étude de Ag 27

1.2.1. Les estuaires, des zones contrastées et vulnérables d'intérêt économique 27
1.2.2. Situation géographique de l'estuaire de la Gironde 29
1.2.3. Morphologie de l'estuaire de la Gironde 29
1.2.4. Hydrodynamique de l'estuaire de la Gironde 31
1.2.5. Hydrologie et transport des particules dans l'estuaire de la Gironde 33
1.2.6. Niveaux et tendances des paramètres physicochimiques 35
1.2.7. Impact anthropique sur le système fluvio-estuarien girondin 39
1.2.7.a. Modification des paramètres physicochimiques 39
1.2.7.b. Les sources de pollutions organiques et métalliques 40
1.2.8. Les espèces clefs de l'estuaire 43
1.2.8.a. La crevette blanche Palaemon longirostris 43
1.2.8.b. L'huître japonaise Crassostrea gigas 45
1.2.8.c. L'anguille européenne Anguilla anguilla 46

1.3. Objectifs de l'étude 50

Chapitre 2 : Matériels et méthodes 53

2.1. Stratégie d'échantillonnage 55

2.1.1. Sites d'échantillonnage 57
2.1.1.a. Profils sédimentaires 57
2.1.1.b. Le réseau d'observation de l'estuaire fluvial 57
2.1.1.c. Campagnes océanographiques 58
2.1.1.d. Le réseau d'observation biologique
2.1.2. Précautions spécifiques pour le prélèvement et le conditionnement des échantillons 60
60
2.1.3. Prélèvements d'eau 61
2.1.4. Prélèvements de particules en suspension 62
2.1.5. Prélèvements des sédiments 62

2.2. Méthodes analytiques 63

2.2.1. Appareillage 63
2.2.2. Mesures des concentrations en Ag dissous 63
2.2.2.a. Photolyse UV 64
2.2.2.b. Dilution isotopique 65
2.2.2.c. Extraction et mesure des chlorocomplexes de Ag 67
2.2.3. Mesure des concentrations en Ag dans la phase particulaire 69
2.2.3.a. Concentrations totales en Ag particulaire 69
2.2.3.b. Spéciation solide de Ag par extractions sélectives en parallèle 69
2.2.4. Traitement du signal 72
2.2.5. Contrôle qualité et performances analytiques 72
2.2.5.a. Limites de détections 72
2.2.5.b. Justesse et précision 74

2.3. Calcul des flux bruts (entrant) et des flux nets (sortant) 76

2.3.1. Calcul des flux bruts 77
2.3.2. Calcul des flux nets 77

2.4. Bioaccumulation de Ag chez les crevettes et les anguilles de l'estuaire de la Gironde 79

2.4.1. Expérimentation in-situ 79
2.4.2. Suivi des concentrations en Ag_P et Ag_D 82
2.4.3. Echantillonnage des crevettes et des anguilles 82
2.4.4. Traitement et analyse des échantillons 83
2.4.5. Analyse des données 85

Chapitre 3 : Enregistrements historiques de la contamination en Ag du système fluvio-estuarien de la Gironde 87

3.1. Introduction 89

3.2. Article #1 :
Long-term (30 years) records and relationships of cadmium and silver contamination in sediment and oysters from the Gironde fluvial-estuarine continuum 91

3.3. Spéciation de Ag dans les sédiments de barrage du Lot. 106

3.4. Conclusion 113

Chapitre 4 : Distribution des concentrations et estimation des flux de Ag dans les bassins versants de l'estuaire de la Gironde 117

4.1. Introduction 119

4.2. Article #2 :
Silver fluxes to the Gironde Estuary - eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale 121

4.3. Conclusion 134

Chapitre 5 : Réactivité intra-estuarienne de Ag et exportation vers la zone côtière 139

141

5.1. Introduction

5.2. Article #3 : 142
Silver behaviour along the salinity gradient of the Gironde Estuary

168

5.3. Conclusion

Chapitre 6 : Bioaccumulation de Ag chez les anguilles et les crevettes de l'estuaire de la Gironde 175

6.1. Introduction 177

6.2. Expérimentation de terrain : exposition d'anguilles *in-situ* 179

6.2.1. Caractérisation des différents sites clés de l'estuaire de la Gironde et contrôle des concentrations en Ag de la nourriture des anguilles 179
6.2.1.a. Paramètres physicochimiques aux différents sites d'exposition 179
6.2.1.b. Contribution en Ag dissous et particulaire aux différents sites d'exposition 182
6.2.1.c. Concentrations en Ag dans les crevettes qui ont alimenté les anguilles 186
6.2.2. Concentrations en Ag des organes des anguilles après trois mois d'exposition dans des conditions environnementales 187
6.2.2.a. Mesure de l'exposition directe 188
6.2.2.b. Mesure de l'exposition trophique 190

6.3. Bioaccumulation de Ag chez les anguilles sauvages 197

6.3.1. Organotropisme de Ag chez les anguilles A. anguilla 198
6.3.1.a. Au sein d'un même site : 198
6.3.1.b. Dans deux sites opposés : Fronsac (Dordogne) et Saint Vivien (estuaire aval) 200
6.3.2. Effet des variables taille-poids-âge des anguilles sauvages sur l'accumulation de Ag 202
6.3.3. Variabilité spatiale de l'accumulation de Ag dans le foie et les reins des anguilles 206

6.4. Bioaccumulation de Ag dans les crevettes *Palaemon longirostris* et *Palaemon macrodactylus* 212

6.4.1. Influence du sexe sur l'accumulation de Ag 212
6.4.2. Accumulation de Ag chez les crevettes P. longirostris et P. macrodactylus 213

6.5. Conclusion 217

Chapitre 7 : Bilan des sources, du transfert et de la bioaccumulation de Ag dans le système fluvio-estuarien girondin 221

7.1. Sources de Ag 223

7.1.1. Source naturelle : l'érosion 223
7.1.2. Source historique : l'activité minière et industrielle sur le bassin de Decazeville 224
7.1.3. Sources contemporaines liées aux rejets anthropiques 226
7.1.3.a. Les rejets urbains 226
7.1.3.b. L'agriculture 226

7.1.3.c. Les flux spécifiques particulaires d'origine anthropique 226

7.2. Transfert de Ag 227

7.2.1. Flux bruts 227
7.2.2. Réactivité intra estuarienne 229
7.2.3. Exports vers le domaine côtier 230

7.3. Bioaccumulation de Ag 231

7.3.1. Biosurveillance du milieu : les huîtres du RNO 231
7.3.2. Biosurveillance : l'anguille européenne Anguilla anguilla 232
7.3.2.a. Biosurveillance : anguilles sauvages 232
7.3.2.b. Biosurveillance : mise en cage d'anguilles 232
7.3.3. Bioaccumulation dans les crevettes 233

Conclusion 235

Perspectives 241

Bibliographie 245

Liste des figures

Chapitre 1 : Contexte scientifique

Figure 1.1. *Argent associé avec de la calcite (source : www.fabreminerals.com).* 9

Figure 1.2. *Demande mondiale en Ag par secteur en 2008 (GFMS WSS, 2009).* 11

Figure 1.3. *Evolution de demande mondiale en Ag par secteur d'application entre 1999 et 2008 (GFMS WSS, 2009).* 12

Figure 1.4. *Distribution des chlorocomplexes de Ag en fonction de la concentration des chlorures dans la gamme (a) 0-0,55 mol/l et (b) 0-0,055 mol/l (Barriada et al., 2007).* 18

Figure 1.5. *Relation entre la plus faible augmentation de la concentration métallique dans les tissus des copépodes (Acartia tonsa) induisant une baisse de la production d'œufs et l'affinité de ces métaux pour les sulfures (Hook et Fisher, 2002).* 22

Figure 1.6. *L'Estuaire de la Gironde et ses affluents majeurs. PK : Point Kilométrique, distance en km depuis le pont de pierre à Bordeaux (Allen, 1972).* 30

Figure 1.7. *Débits moyens annuels entre 1959 et 2006 de la Garonne et de la Dordogne et entre 1972 et 2002 pour l'Isle (Dabrin, 2009).* 32

Figure 1.8. *Débit moyen annuel Garonne+Dordogne sur la période 1930-2005 (Castaing et al., 2006).* 33

Figure 1.9. *Variation des températures ponctuelles des eaux de surface (bleu) et de l'air (rouge) de 1978 à 2005 dans l'estuaire de la Gironde au PK52 (données SOMLIT ; Etcheber et al., 2009a).* 36

Figure 1.10. *Répartition quotidienne des saturations de l'eau en* O_2 *dissous à Bordeaux en septembre 2006 (Etcheber et al., 2009b).* 38

Figure 1.11*. Localisation des dépôts miniers dans le bassin Adour-Garonne (d'après BRGM, 1978, 1980, 1983, 1985, modifiés par Schäfer et Blanc, 2002).* 40

Figure 1.12. *Bassin de Decazeville, source de pollution polymétallique de l'estuaire de la Gironde.* 42

Figure 1.13. *Evolution de la fécondité moyenne de la crevette blanche. Les chiffres en rouge sont les moyennes (d'après Béguer, 2009).* 44

Figure 1.14. *Carte des obstacles recensés dans le bassin versant « Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre » et périmètre du bassin anguille (sources : DIREN Aquitaine, ONEMA, MI.GA.DO., Institution Charente, Parc des Landes de Gascogne, SMIDDEST,*

Agence de l'Eau Adour Garonne ; citées dans le Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010). 47

Figure 1.15. *Cartographie des principaux obstacles à la libre circulation sur le bassin Gironde Garonne Dordogne (source : MI.GA.DO. 2007b).* 48

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Figure 2.1. *Sites d'échantillonnage des apports fluviaux (●), des carottages sédimentaires (↘ ;A), des huîtres par le RNO (★ ; B), et campagnes océanographiques dans les gradients géochimiques estuariens (C).* 56

Figure 2.2. *Navire océanographique « Côtes de la Manche » de l'INSU.* 58

Figure 2.3. *Localisation des sites d'échantillonnage du RNO (source IFREMER).* 60

Figure 2.4. *Prélèvement et traitement des échantillons d'eau.* 61

Figure 2.5. *Prélèvement des matières en suspension : pompage (bouée orange), containers et centrifugeuses.* 62

Figure 2.6. *Système de Photolyse UV.* 65

Figure 2.7. *Principe de la dilution isotopique.* 65

Figure 2.8. *Schéma du couplage colonne de résine-ICP-MS. A : La résine 1, préalablement chargée avec un échantillon α, est éluée en ligne avec l'ICP-MS (étape 3). B : la résine 2 est chargée avec un échantillon β (étape 1). Pour optimiser le temps d'analyse, les phases A et B sont effectuées en parallèle.* 68

Figure 2.9. *Protocole opératoire des attaques sélectives et totale des particules et du sédiment adapté d'Audry (2003).* 5/12 $CHNaO_3$+5/12 $C_6H_5Na_3O_7$*H_2O+2/12 $C_6H_8O_6$.* 71

Figure 2.10. *Exemple de chromatogramme des isotopes ^{107}Ag et ^{109}Ag obtenu après dopage en ^{107}Ag (méthode de dilution isotopique).* 72

Figure 2.11. *Effet de la quantité d'isotope ^{107}Ag ajoutée pour la dilution isotopique sur la concentration moyenne en Ag_D mesurée (n=3) et facteur de modification du rapport isotopique $^{107}Ag/^{109}Ag$ associé. Les barres d'erreur représentent les écart-types des concentrations en Ag_D.* 75

Figure 2.12. *Droite de dilution théorique et processus d'addition et de soustraction pour un élément plus concentré en milieu marin (élément A) et plus concentré en milieu fluvial (élément B).* 78

Figure 2.13. *Codage (A et B) par injection de silicone coloré, pesée et mesure de la taille des anguilles destinées à l'expérimentation de terrain (caging).* 80

Figure 2.14. *Expérimentation de terrain (caging). Mise en cage des anguilles (A), rationnement des anguilles par une quantité adaptée de crevettes (B), mise à l'eau des différents traitements et réplicats à chaque site (C, exemple du site de Pauillac) où les paramètres physico-chimiques sont enregistrés à très haute fréquence (D ; réseau MAGEST) et entretien bihebdomadaire (E).* 81

Figure 2.15. *Sites d'échantillonnage des crevettes et des anguilles et sites d'exposition des anguilles en cage (caging).* 82

Figure 2.16. *Les deux espèces étudiées : Palaemon longirostris (A) et Palaemon macrodactylus (B). Photographies issues de Béguer (2009).* 83

Figure 2.17. *Dissection collective des anguilles (A). Prélèvement du foie, de l'intestin et de l'estomac (B), des reins (C), des branchies (D) et du muscle (E).Photographies de S. Renault.* 84

Chapitre 3 : Enregistrements historiques de la contamination en Ag du système fluvio-estuarien de la Gironde

Figure 3.1. *Estuaire de la Gironde (SO France) avec A) les sites d'échantillonnage des huîtres par le RNO et B) les retenues de barrage où ont été prélevées les carottes sédimentaires.* 90

Figures article #1

Figure 1*: The Gironde Estuary (SW France) with sampling locations of A) oysters and B) sediment cores. The La Réole site, located at the upstream limit of tidal dynamics, is a permanent observation site for trace element concentrations and fluxes at the main entry of the Gironde Estuary (for details see Schäfer et al., 2002).* 92

Figure 2: *Cadmium concentrations, Ag concentrations and ^{137}Cs activity vs depth for the sediment cores from the Marcenac (geochemical background; empty symbols) and the Cajarc (historical record of metallurgical pollution; filled symbols) sites. Cadmium and ^{137}Cs profiles are from Audry et al. (2004b).* 96

Figure 3: *Sliding means (n=4 for the 1979-2002 and n=2 for the 2003-2007 periods) of Cd (A and C) and Ag (B, D and E) concentrations in oysters from the La Fosse (A,B,C,D and E), Pontaillac (A and B) and Bonne Anse (A and B) sites during 1979-*

2007. Particulate Cd (C; white bars) and Ag (D; white and grey bars) gross fluxes at the La Réole site over time. Particulate Cd gross fluxes in 1990-1999 are from Schäfer et al. (2002), Audry et al. (2004a) for 2000, Masson et al. (2006) for 2001-2002 and from Dabrin et al. (2009) for 2003-2007. The grey bars represent estimated particulate Ag gross fluxes at the La Réole site in 1990-1998. Particulate Ag fluxes in 1999-2007 are from Lanceleur et al. (in press). (E): Ag concentrations in oysters and photographic film sold in France vs time. Ag levels were measured (full circles) and estimated (open squares) from pre-1986 Cd/Ag ratio and from Cd concentrations in oysters. 98

Figure 3.2. *Enregistrement historique des concentrations en Ag en aval (Cajarc) de la source de pollution polymétallique du bassin de Decazeville. Le bruit de fond géochimique correspond au profil sédimentaire des concentrations mesurées dans une carotte réalisée en amont de la source polymétallique (Marcenac). L'échelle de temps est déterminée par datation au ^{137}Cs (Audry et al., 2004c).* 106

Figure 3.3. *Contribution (en %) de chaque fraction extraite sélectivement aux concentrations en Ag_{total} déterminées par attaque totale des sédiments de Cajarc en fonction de la profondeur.* 107

Figure 3.4. *Photographie par microscopie électronique à balayage (SEM ; A) et spectre de l'analyse dispersive en énergie (EDX ; B) d'une argile recouverte en partie de matière organique et probablement de chlorocomplexes de Ag. Cette particule provient d'un échantillonnage de MES à Pauillac le 18/09/2008. Son analyse a été réalisée en collaboration avec l'université de Karlsruhe dans le cadre d'un stage de Master 2 franco-allemand.* 108

Figure 3.5. *Concentrations en Ag total dans la carotte de Cajarc en fonction de la profondeur et du temps (A). ERM : Effect Range Median : concentration à partir de laquelle les effets toxiques occasionnelles induit par Ag deviennent fréquents (Long et al., 1995). Contribution de la fraction en Ag extraite par HCl (1 M) à la teneur totale en Ag (B).* 110

Figure 3.6. *Modifiée d'après Sivry et al. (2008). Profils des concentrations de Zn (mg/kg, carrés noirs) en fonction de la profondeur (cm) et du temps (année), Zn/Sc (cercles blancs) et $\delta^{66}ZnJMC$ (‰, losanges noires) dans la carotte de Cajarc. Concentrations de Zn et Zn/Sc d'après Audry et al. (2004c). Profil de la contribution de la fraction HCl (1 M) aux concentrations totales en Ag. Les périodes A' (carrés bleus) et B' (carrés verts) correspondent aux périodes A et B de Sivry et al. (2008).* 111

Figure 3.7. *Co-évolution des concentrations en Cd et Ag dans le profil sédimentaire de Cajarc ($R_{Spearman}$=0,91; n=43; p<0.01).* 112

Figure 3.8. *Profils sédimentaires des concentrations en Ag, Cu et Cd totales dans la carotte de Cajarc. Cu et Cd d'après Audry (2003).* 112

Chapitre 4 : Distribution des concentrations et estimation des flux de Ag dans les bassins versants de l'estuaire de la Gironde

Figures article #2

Figure 1. Map of the Gironde Estuary and its tributaries. Black dots show the observation sites. 123

Figure 2. Dissolved and particulate Ag concentrations over time (1999-2009) at the observation sites La Réole (LR), Port Sainte Marie (PSM), Temple (T), Riou Mort (RM) and Boisse Penchot (BP). The dashed horizontal line represents detection limit (DL=3σ of blank values). Open symbols used for Ag_D represent indicative values below DL. 127

Figure 3. Dissolved Ag concentrations by year (1st column) and by season (2nd column) and Th_P-normalised Ag_P concentrations by year (3rd column) and by season (4th column) at the different sampling sites. The dashed horizontal line represents detection limit (DL=3σ of blank values). 128

Figure 4. Minimum and maximum dissolved (FAg_D) and particulate (FAg_P) Ag fluxes and surface and population-specific fluxes (Fspe) at each sampling site. Specific fluxes were calculated from anthropogenic Ag_P fluxes. Additional total Ag (FAg_{TOT}) inputs to river water from wastewater (Bordeaux and Toulouse cities) and cloud-seeding are shown. Sampling period: 1999-2009 for FAg_P at all sites except for Boisse-Penchot (2004-2009) and for Guîtres and Pessac (2000-2002); 2004-2009 for FAg_D at all sites. nm: not measured. 131

Figure 4.1. *Distribution des dispositifs utilisés pour l'ensemencement des nuages par iodure d'argent dans le département de la Gironde (source ANELFA, Association Nationale d'Etude et de Lutte contre les Fléaux atmosphériques).* 137

Chapitre 5 : Réactivité intra-estuarienne de Ag et exportation vers la zone côtière

Figures article #2

Figure 1. Map of the Gironde Estuary, South West France. Kilometric Point (KP): distance (km) from Bordeaux. Black lines correspond to navigation channels. 145

Figure 2. Ag_D, UV-Ag_D and SPM for the April 2008 (A), the March 2009 (A) and the June 2009 (C) cruises along the salinity gradient. Black line: linear regression of used for net UV-Ag_D flux (Boyle et al., 1974, 1982) with correlation coefficient, p-value at the 95% confidence level, number of points used for each regression and equation of the dilution line. The white star represents North Atlantic Ocean Ag_D (data from Rivera-Duarte et al., 1999). 156

Figure 3. Particulate Ag concentrations (Ag_P) and Ag_P/Th_P for the April 2008 (A), the March 2009 (A) and the June 2009 (C) cruises along the salinity gradient. 158

Figure 5.1. *Moyennes mobiles des concentrations en Ag dans les huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde sur la période 1982-2007.* 169

Figure 5.2. *Distribution des concentrations en Ag dissous (Ag_D ; ronds et carrés noirs) et en matières en suspension (MES ; carrés et surfaces gris) dans le gradient de salinité de l'estuaire de l'estuaire de la Gironde en avril 2008 (A) et dans l'estuaire de Fal, sud ouest de l'Angleterre (B ; réalisé d'après Tappin et al., 2010). N.B. Les gammes de variation de Ag_D et des MES sont différentes entre A et B. Le graphique B a été tracé d'après les données numériques publiées par Tappin et al. (2010).* 171

Chapitre 6 : Bioaccumulation de Ag chez les anguilles et les crevettes de l'estuaire de la Gironde

Figure 6.1. *Débit de la Garonne et de la Gironde en 2008 (source : http://www.hydro.eaufrance.fr/). Les débits de la Gironde sont calculés comme la somme des débits de la Garonne et de la Dordogne + 15% afin de tenir compte des affluents situés en aval des stations de jaugeage (Schäfer et al., 2002).* 137

Figure 6.2. *Turbidité (en N.T.U.), salinité et oxygène dissous (en mg/l) enregistrés dans les différents sites du réseau MAGEST en 2008.* 179

Figure 6.3. *Concentrations en Ag dissous aux différents sites d'exposition des anguilles en cage. La partie grisée correspond à la période d'exposition. LD : limite de détection. Par définition, les valeurs en dessous de cette limite (entre parenthèses) et ne sont montrées que pour information.* 181

Figure 6.4. *Concentrations en Ag dissous (Ag_D) et en matières en suspension (MES) en fonction de la salinité à Pauillac.* 183

Figure 6.5. *Concentrations particulaires en Ag aux différents sites d'exposition des anguilles en cage. La partie grisée correspond à la période d'exposition des anguilles sur le terrain.* 184

Figure 6.6. *Concentrations en Matières En Suspension (MES) aux différents sites du réseau MAGEST déterminées par des prélèvements ponctuels au cours de l'année 2008. La partie grisée correspond à la période d'exposition des anguilles sur le terrain.* 185

Figure 6.7. *Concentrations en Ag en mg/kg de poids frais de crevette (pf) dans les crevettes pêchées dans le domaine de Certes et en Gironde qui ont nourries les anguilles en cage lors l'expérimentation sur le terrain. Chaque valeur n correspond à la concentration en Ag de trois crevettes d'un même lot de pêche minéralisées ensemble.* 185

Figure 6.8. *Plan d'expérimentation de terrain : quatre sites (Pauillac, Bordeaux, Cadaujac et Libourne), deux traitements par site (Certes (C) ou Gironde (G)) répétés en duplicat (1 et 2) et un lot d'anguilles témoins analysé au départ de l'expérimentation.* 187

Figure 6.9. *Regroupement des données pour la détermination de l'effet site sur la contamination des anguilles en Ag durant les trois mois d'exposition. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.* 188

Figure 6.10. *Comparaison de l'ensemble des réplicats et du lot témoin pour la détermination de l'effet site. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.* 189

Figure 6.11. *Regroupement des valeurs en Ag pour un même organe et pour un même traitement tous sites confondus. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.* 190

Figure 6.12. *Comparaison des traitements (A et B) et des réplicats (a,b,c et d) entre eux ainsi qu'avec les anguilles témoins, exemple pour le site de Pauillac. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.* 191

Figure 6.13. *Concentrations en Ag en mg/kg de poids frais (pf) dans le muscle, les branchies et l'estomac des anguilles exposées en cage à Cadaujac, Bordeaux et Pauillac. T_0 : Anguilles témoins.* 193

Figure 6.14. *Concentrations en Ag en mg/kg de poids frais (pf) dans l'intestin, les reins et le foie des anguilles exposées en cage à Cadaujac, Bordeaux et Pauillac. T_0 : Anguilles témoins.* 194

Figure 6.15. *Localisation des sites de pêches des anguilles européennes lors de cette étude en 2009 et lors de la campagne menée en 2005.* 196

Figure 6.16. *Organotropisme de Ag (moyenne et écart type) chez les anguilles européennes de l'estuaire de la Gironde pêchées à Fronsac (n=12 ; S=0) et à Saint Vivien (n=12 ; 15<S<20) en 2009.* 199

Figure 6.17. *Relation entre le poids (g) et la taille (mm) des anguilles capturées au cours de cette étude en 2009 (n=42) et au cours de la thèse de Fabien Pierron en 2005 (n=30).* 202

Figure 6.18. *Courbe de croissance de von Bertalanffy ajustée à la longueur de 91 anguilles pêchées dans l'estuaire de Severn (Angleterre) et âgées d'après le nombre d'annuli comptés sur les otolithes, d'après Bird et al. (2008).* 203

Figure 6.19. *Courbes de croissance de l'anguille européenne dans différents fleuves et lagunes d'Europe en fonction de l'âge (obtenu d'après le nombre d'annuli comptés sur les otolithes). En trait continu les animaux immatures et les mâles, en pointillé les femelles (d'après Bertin, 1942 ; Meunier, 1994).* 204

Figure 6.20. *Relation entre la taille et la concentration en Ag dans le foie des anguilles européennes échantillonnées lors de cette étude en 2009 et en 2005 lors de la thèse de Fabien Pierron. R : cœfficient de corrélation de rang de Spearman. Les corrélations statistiquement significatives (p<0,05) sont suivies d'une étoile rouge.* 205

Figure 6.21. *Concentrations en Ag (mg/kg, ps) dans le foie (A) et dans les reins (B) des anguilles en fonction du Point Kilométrique de leur lieu de pêche dans l'estuaire de la Gironde (i.e. distance en km au pont de pierre à Bordeaux) lors des études de 2005 (thèse de Fabien Pierron) et de 2009. C : Concentrations en Ag dissous (Ag_D) en fonction du Point Kilométrique d'échantillonnage mesurées dans la Garonne (Bordeaux, Cadaujac, La Réole et Port Sainte Marie) et la Dordogne (Libourne) lors des suivis d'observation de l'année 2008 (n=16-18) et dans l'estuaire de la Gironde pour des débits contrastés lors des campagnes océanographiques (VTR6, MTG2 et GMC6).* 207

Figure 6.22. *Concentrations en Ag (mg/kg, ps) dans le foie (A) et dans les reins (B) normalisées par la taille des anguilles (Ag*) en fonction du point kilométrique de leur lieu de pêche dans l'estuaire de la Gironde (i.e. distance en km au pont de pierre à Bordeaux) lors des études de 2005 (thèse de Fabien Pierron) et de 2009.* 209

Figure 6.23. *Comparaison des concentrations en Ag dans l'hépatopancréas et le muscle selon le sexe des crevettes de l'espèce P. longirostris.* 213

Figure 6.24. *Concentrations en Ag dans l'hépatopancréas et le muscle des crevettes femelles Palaemon longirostris (A, n=45) et Palaemon macrodactylus (B, n=25) pêchées en 2006-2007.* 214

Figure 6.25. *Comparaison des concentrations en Ag dans l'hépatopancréas (A) et dans le muscle (B) des crevettes femelles des espèces Palaemon longirostris et Palaemon macrodactylus pêchées en 2006-2007.* 216

Chapitre 7 : Bilan des sources, du transfert et de la bioaccumulation de Ag dans le système fluvio-estuarien girondin

Figure 7.1. *A : Moyenne des rapports Ag_P/Th_P minimaux calculés dans les particules en suspension pour les sites de prélèvement (étoile rouge) suivants : Guîtres (G ; 2000-2002), Pessac (P ; 2000-2002), La Réole (LR ; 1999-2009), Temple (T ; 2000-2009), Port Sainte Marie (PSM ; 2000-2009), Riou-Mort (RM ; 1999-2010) et Boisse Penchot (BM ; 2004-2009). B : rapport Ag_P/Th_P dans la Grande Vasière Ouest Gironde. C : moyenne du rapport Ag_P/Th_P dans le profil sédimentaire de la retenue de Marcenac.* 223

Figure 7.2. *Contribution des flux de Ag particulaire (Ag_P), de particules, de Ag_D et d'eau du Riou-Mort aux flux apportés par la Garonne à l'estuaire (mesurés à la Réole) sur la période 1999-2009. « n.m. » : non mesuré.* 225

Figure 7.3. *Évolution des flux bruts de Ag dissous (Ag_D) et particulaire (Ag_P), des flux de particules et des flux d'eau (avec une échelle différente) apportés par la Garonne (mesurés à La Réole) depuis 1999 jusqu'à 2009. Les flux de Ag_P sont distingués selon leur origine naturelle (en lien avec le bruit de fond géochimique régional des particules) ou anthropique (par complément).* 228

Liste des tableaux

Chapitre 1 : Contexte scientifique

Tableau 1.1. *Classement des pays producteurs de Ag (The Silver Institute, consulté en 2010).* 10

Tableau 1.2. *Estimation des rejets en Ag dans l'environnement aux Etats-Unis en 1978 (US PHS, 1990).* 13

Tableau 1.3. *Accumulation de Ag pour différentes espèces aquatiques (Luoma, 2008).* 23

Tableau 1.4. *Apport annuel en eau et en MES à l'estuaire de la Gironde et débits moyens de la Garonne, la Dordogne et de l'Isle.* 34

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Tableau 2.1. *Missions réalisées à bord du navire « Côtes de la Manche » de l'INSU. Sal. : Salinité ; MES : Matières En Suspension ; O_2 : oxygène dissous ; Temp. : Température de l'eau de surface ; COD : Carbone Organique Dissous ; COP : Carbone Organique Particulaire ; Chla : Chlorophylle a.* 59

Tableau 2.2. *Cycle opératoire de l'analyse de Ag dissous par élution en ligne.* 68

Tableau 2.3. *Exemples de limites de détection (3ET) de Ag pour différents types d'analyse.* 73

Tableau 2.4. *Matériaux de référence dosés. Att. Tot. : attaque totale ; D.I. : dilution isotopique ; UV : ultraviolets ; nd :non déterminée.* 73

Tableau 2.5. *Matériaux de référence dosés. Att. Tot. : attaque totale ; D.I. : dilution isotopique ; UV : ultraviolets ; nd :non déterminée.* 74

Tableau 2.6. *Comparaison des concentrations en Ag dissous (Ag_D ; moy±ET) obtenues par la méthode de séparation en ligne (dilution isotopique et résine-ICP-MS) employée dans cette étude avec les valeurs de la littérature pour différents types de matériaux de référence en matrice saline (SLEW-3, CASS-4, CASS-5) et en eau douce (NIST-1640) et effet du traitement aux ultraviolets sur ces concentrations. n : nombre d'analyses.* 76

Tableau 2.7. *Exemple de conversion entre poids frais et poids sec des tissus de crevette et d'anguille.* 85

Chapitre 4 : Distribution des concentrations et estimation des flux de Ag dans les bassins versants de l'estuaire de la Gironde

Tableaux article # 2

Table 1. Results obtained from analyses of Certified Reference Materials. n: number of independent analyses. 124

Table 2. Annual mean (x), minimum (min) and maximum (max) water discharges (n=365), SPM concentrations (n=365), particulate and dissolved silver concentrations (Ag_P and Ag_D; n=12-23 for both parameters and each year) and estimated water (F water), SPM (F SPM), dissolved Ag (FAg_D), particulate Ag (FAg_P), total Ag (FAg_{TOT}) and anthropogenic Ag (F Anthr. Ag_P) fluxes at each site during the 1999-2009 period. LR: La Réole, PSM: Port-Sainte-Marie, T: Temple, RM: Riou-Mort, BP: Boisse-Penchot, P: Pessac, G: Guîtres, *nm*: not measured, *DL*: below Detection Limit. INSEE (2006) provided watershed surface and population data. 126

Chapitre 5 : Réactivité intra-estuarienne de Ag et exportation vers la zone côtière

Tableaux article # 3

Table 1. Mean ± standard deviation of dissolved Ag (Ag_D) concentrations in estuarine and nearshore seawater Certified Reference Material (SLEW-3, CASS-4, CASS-5) and freshwater Standard Reference Material (NIST-1640). n: number of individual analyses. 150

Table 2. Sampling station locations and data for Salinity (Sal.), Suspended Particulate Matter (SPM), Oxygen (O_2), pH, Temperature (Temp.), Dissolved and Particulate Organic Matter (DOM and POM), Chlorophyll a (Chl-a), Particulate Ag (Ag_P), Particulate Th (Th_P), Ag_P/Th_P, Dissolved Ag (Ag_D) and dissolved Ag after photo-oxidation (UV-Ag_D). 152

Chapitre 6 : Bioaccumulation de Ag chez les anguilles et les crevettes de l'estuaire de la Gironde

Tableau 6.1. *Concentrations (en g/l) en MES aux différents sites de l'expérimentation de terrain.* 180

Tableau 6.2*. Comparaison statistique (comparaison multiple des rangs moyens) des concentrations en Ag entre les organes des anguilles de Fronsac (n=12). « ≠ » : différence significative (p<0,05) ; « ns » : non significatif.* 199

Tableau 6.3*. Comparaison statistique (comparaison multiple des rangs moyens) des concentrations en Ag entre les organes des anguilles de Saint Vivien (n=12). « ≠ » : différence significative (p<0,05) ; « ns » : non significatif.* 200

Tableau 6.4*. Comparaison statistique (W-M-W) des concentrations en Ag pour un même organe entre les anguilles de Fronsac (n=12) et celles de Saint Vivien (n=12). « ≠ » : différence significative (p<0,05) ; « ns » : non significatif.* 201

Chapitre 7 : Bilan des sources, du transfert et de la bioaccumulation de Ag dans le système fluvio-estuarien girondin

Tableau 7.1. *Concentrations typiques en Ag particulaire (Ag_P ; mg/kg) et dissous (Ag_D ; ng/l). « n.m. » : non mesuré.* 227

Tableau 7.2. *Flux annuels moyens d'eau, de particules, de Ag particulaire (Ag_P) et dissous (Ag_D) pour la Garonne, la Dordogne et la Gironde (Garonne + Dordogne). « * » période mesurée : 2004-2009. « n.m. » : non mesuré.* 228

Introduction

L'argent (Ag) est un élément rare, un métal précieux, intimement lié à l'homme depuis l'antiquité mais dont l'usage a toujours été un paradoxe.
Représentant un symbole de richesse et de noblesse, Ag est un métal apprécié par l'homme qui lui accorde même une valeur sentimentale lorsque ce métal entre dans la composition des bijoux ou de l'argenterie traditionnellement transmise de génération en génération. Pourtant, son emploi dans la vaisselle est aussi un témoignage de son caractère biocide exploité par le passé où les denrées périssables, tout comme le lait et l'eau, étaient conservées dans des récipients en argent. Bien que Ag appartienne à la classe des métaux les plus toxiques pour les premiers stades de développement, les bactéries, le phytoplancton et les invertébrés (Bryan, 1984 ; Eisler, 1996 ; Luoma et al., 1995 ; Mc Donnell et Russel, 1999 ; Ratte, 1999 ; Richards, 1981), il est généralement considéré comme inoffensif pour l'homme (les toxicités aiguës chez l'homme sont seulement le résultat de causes accidentelles de surdose médicale ; Smith et Carson, 1977).

Constituant de la croûte terrestre (0,055 mg/kg ; Wedepohl, 1995), la présence de Ag dans l'environnement est naturelle. Cependant, la richesse des roches et des sols en Ag, leur exploitation, les applications techniques et les rejets en Ag qui en sont la conséquence peuvent localement représenter et/ou provoquer des anomalies géochimiques. Les principales sources en Ag reportées dans la littérature scientifique sont:

- l'érosion des sols (US PHS, 1990),
- l'exploitation minière et métallurgique des éléments auxquels Ag (élément chalcophile selon la classification géochimique de Goldschmidt, 1923) s'associe dans les gisements métallifères (Zn, Cu, Pb, Ni, Au ou Pt ; Smith et Carson, 1977 ; US PHS, 1990),
- la combustion de charbon et de pétrole (US PHS, 1990),
- les effluents urbains et industriels provenant de stations d'épurations (Rozan et Hunter, 2001 ; Squier et al., 2002 ; US PHS, 1990),
- les rejets de l'industrie photographique (Smith et Carson, 1977 ; US PHS, 1990),
- rejets de l'industrie électronique (US PHS, 1990),
- l'ensemencement des nuages (US PHS, 1990).

Parmi ces sources, seule l'érosion des sols est une source naturelle pour l'environnement. Les rejets en Ag dus à l'homme peuvent être suffisamment importants pour impacter les différents compartiments (sédiment, matière en suspension, colonne d'eau, biota) d'un écosystème aquatique sur plusieurs décennies, tel que cela a été le cas pour la Baie de San Francisco (Flegal et al., 2007 ; Hornberger et al., 2000).

L'industrie est le principal secteur d'exploitation des propriétés chimiques (sels photosensibles) et électriques (métal le plus conducteur) exceptionnelles de Ag (GFMS WSS, 2009). Toutefois, un intérêt particulier est de nouveau porté aux caractéristiques biocides, i.e. toxiques de ce métal, soit sous forme ionique Ag^{+}, soit sous forme de nano-particules de Ag, qui trouvent par exemple des applications dans la désinfection des eaux potables. Le parallèle entre l'utilisation passée et contemporaine des propriétés toxiques de Ag, de même qu'entre la contamination minière historique de certains systèmes (e.g. la Baie de San Francisco ; Flegal et al., 2007) et l'essor des nanotechnologies, désigne **Ag à la fois comme un polluant historique et comme un polluant émergent**.

L'essor de l'utilisation de Ag, soulevé par l'intérêt scientifique et économique des nouvelles technologies, et son impact sur les milieux aquatiques ne pourront être discutés qu'au regard des connaissances acquises sur :

- l'origine de Ag dans l'environnement,
- l'évolution historique des concentrations en Ag dans les sédiments, l'eau et le biota,
- la quantification des rejets anthropiques et du transport naturel de Ag,
- la compréhension du devenir de Ag dans l'environnement et notamment sa mobilité, sa réactivité, ses transformations et sa biodisponibilité.

Le premier chapitre de ce travail détaille premièrement l'historique de l'exploitation de Ag, sa toxicité et son cycle géochimique dans les milieux aquatiques, mettant en évidence l'avancée et les limites des connaissances sur ce métal. Dans un deuxième temps, il décrit en quoi l'estuaire de la Gironde, le plus vaste estuaire européen, s'est imposé comme un modèle de terrain idéal pour l'étude de Ag.

Le second chapitre présente la stratégie d'échantillonnage et notamment les suivis d'observation à long terme du Réseaux National d'Observation (IFREMER) et de l'équipe

« Transferts Géochimiques des Métaux à l'interface continent océan » (TGM) appartenant à l'équipe thématique « Géochimie et Écotoxicologie des Métaux dans les systèmes Aquatiques », qui m'a accueilli pour effectuer ce travail de thèse. Ces deux approches de l'observation à long terme ont permis la construction de banques d'échantillons et de données exceptionnelles qui sont exploitées dans cette étude. Cette partie présente également les sites d'échantillonnage et les campagnes océanographiques, les méthodes de prélèvement et d'analyse des échantillons d'eau, de particules et biologiques, ainsi que l'expérimentation d'exposition *in situ* d'anguilles en cage.

Le troisième chapitre présente les profils sédimentaires de Ag établis à partir de l'analyse des échantillons obtenus par carottage de retenus de barrage en amont du bassin versant de l'estuaire de la Gironde. Les différentes phases porteuses ont été estimées par attaques sélectives des échantillons et les concentrations en Ag ont été comparées aux concentrations en cadmium (Cd ; Audry et al., 2004c) afin d'estimer le bruit de fond géochimique régional et la contribution de l'ancien site minier et industriel de Decazeville à l'origine de la pollution du continum fluvio-estuarien de la Gironde en Cd. L'enregistrement historique des concentrations en Ag et Cd dans les sédiments a été comparé à celui des concentrations en Ag et Cd dans les huîtres prélevées par le Réseau National d'Observation (RNO, Ifremer) à l'embouchure de la Gironde. Ce chapitre fait l'objet d'un article scientifique (soumis) intitulé « **Long-term (30 years) records and relationships of Cadmium and Silver contamination in oysters and sediment from the Gironde fluvial-estuarine continuum »** dont différents aspects des résultats ont été présentés lors :
- du colloque « ECOBim » à Nantes en mai 2010 (poster).
- de la « journée de l'école doctorale » en mai 2010 à Bordeaux (présentation orale).
- de la « 15ème conférence internationale sur les métaux lourds dans l'environnement (ICHMET) » en septembre 2010 à Gdańsk en Pologne (présentation orale).
- de la « 23ème Réunion de Sciences de la Terre (RST) » en octobre 2010 à Bordeaux (présentation orale).

Le quatrième chapitre traite des concentrations en Ag dissous (Ag_D) et particulaire (Ag_P) mesurées depuis 1999 aux entrées fluviales de l'estuaire de la Gironde afin d'estimer les flux en Ag apportés par les différents bassins versants à l'estuaire de la Gironde. Le bruit de fond géochimique régional a été estimé à partir du rapport Ag_P/Th_P afin d'affranchir les concentrations particulaires en Ag de l'effet granulométrique. A partir de celui-ci, nous avons

estimé les flux d'argent naturel et anthropique ainsi que les flux spécifiques par habitant et par surface pour chaque bassin versant. Le bilan est complété par la première estimation des rejets agricoles (ensemencement des nuages) et urbains (eaux usées traitées) en Ag. Ces résultats sont présentés sous forme d'un article sous presse dans la revue Applied Geochemistry intitulé « **Silver fluxes to the Gironde Estuary - Eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale »** dont les résultats ont été présentés en partie lors :
- du « 10ème symposium international de biogéochimie estuarienne (IEBS) » en mai 2008 à Xiamen en Chine (présentation orale).
- de la « journée de l'école doctorale » en mai 2010 à Bordeaux (présentation orale).

Le cinquième chapitre concerne l'estimation des flux nets journaliers en Ag exportés en dehors de l'estuaire de la Gironde lors de deux situations hydrologiques contrastées à partir de trois profils longitudinaux dans le gradient salin estuarien. Le comportement non conservatif de Ag est discuté au regard des concentrations en particules en suspension. L'intensité des processus de désorption est comparée à une attaque HCl 1M. Ces résultats sont valorisés dans un article à soumettre intitulé « **Silver behaviour along the salinity gradient of the Gironde Estuary »**, et ont été présentés en partie lors :
- de la « journée de l'école doctorale » en mai 2010 à Bordeaux (présentation orale).
- de la « 15ème conférence internationale sur les métaux lourds dans l'environnement (ICHMET) » en septembre 2010 à Gdańsk en Pologne (présentation orale).
- de la « 23ème Réunion de Sciences de la Terre (RST) » en octobre 2010 à Bordeaux (présentation orale).

Le sixième chapitre met en relation la distribution spatiale des concentrations en Ag_D et l'accumulation de Ag dans les organes des anguilles européennes (*Anguilla anguilla*) sauvages, des anguilles européennes exposées en cages, et des crevettes dans le continuum fluvio-estuarien de l'estuaire de la Gironde. Enfin, les voies d'exposition des anguilles (voie directe et voie trophique) sont appréhendées par le biais d'une expérimentation de terrain. Les résultats préliminaires ont été présentés lors :
- du colloque scientifique « Impact des organismes pathogènes et des micropolluants sur l'état de santé des poissons, mollusques et crustacés des milieux naturels : de l'individu au peuplement » à Nantes en mars 2008 (poster).
- du « XIème symposium international sur l'océanographie (ISO) » en avril 2008 à Donostia-San Sebastián en Espagne (poster).

Le septième chapitre synthétise les résultats obtenus au cours de cette étude.

Cette étude s'inscrit dans le projet multipartenaires « EEL-scope » (Eco-toxicological and Economical Liability of eel exposed to Seasonal and global Change-induced O_2-depletion ad Pollution in Estuaries), financé par le programme « Vulnérabilité Milieu et Climat » de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR-07-VULN-03).

A notre connaissance l'originalité de ce travail de thèse est de présenter au niveau mondial :

- ✓ la seconde série de données la plus importante (et la première en Europe) sur l'enregistrement historique des concentrations en Ag dans un bivalve, dans un système ayant subi une pollution polymétallique historique,

- ✓ la première estimation des concentrations et des flux en Ag particulaires et dissous apportés par les rivières d'un bassin versant majeur sur une décennie à partir d'une stratégie d'échantillonnage haute fréquence adaptée à la variabilité hydrologique et la réactivité du milieu,

- ✓ la première estimation des flux nets journaliers en Ag à partir de profils longitudinaux dans un gradient de salinité, et notamment sous des conditions hydrologiques contrastées dans un estuaire européen majeur : l'estuaire de la Gironde.

- ✓ la première estimation des concentrations en Ag par organe et selon un gradient spatial pour les anguilles européennes.

Chapitre 1

Contexte scientifique

1.1. L'argent (Ag), d'un polluant historique à un polluant émergent

1.1.1. Production mondiale en Ag

L'argent est un métal rare (67ème élément en abondance) naturellement présent dans la croûte terrestre (0,055 mg/kg ; Wedepohl, 1995), qui possède deux isotopes stables (^{107}Ag et ^{109}Ag) et 48 radioisotopes (Calmon et al., 2002) qui n'existent pas naturellement. C'est un métal blanc et ductile (Fig. 1.1), métastable dans l'air et l'eau sauf en présence de sulfure et d'acide fort. Dans l'environnement naturel, Ag existe à l'état natif, sous forme de composé soufré (argentite Ag_2S), et associé avec d'autres métaux chalcophiles en particulier Pb, Cu, Fe , Zn, Au et As (US PHS, 1990).



Figure 1.1. *Argent associé avec de la calcite (source : www.fabreminerals.com).*

Seuls 30% de la production en Ag proviennent de mines exploitant exclusivement ce métal (silverinstitute.org). C'est principalement un produit secondaire de l'exploitation de Pb, de Zn, de Cu (Etats-Unis), des fonderies de Ni (Canada), de Pt et de Au (Afrique du Sud) (Smith et Carson, 1977).

L'estimation de la production minière mondiale pour l'année 1990 était de 14 600 t dont 17% provenait du Mexique, 14% des Etats-Unis, 12% du Pérou, 10% de la Russie, 9% du Canada (Reese, 1991). Entre 1999 et 2008, la production minière mondiale de Ag a augmenté linéairement passant de ~16 000 à ~19 500 t, principalement comme co-produit de l'extraction de Au et de Pb/Zc (GFMS WSS, 2009). Aujourd'hui encore, les pays d'Amérique du Sud et d'Amérique Centrale restent les principaux producteurs pour leurs ressources géologiques et le coût de la main d'œuvre (Tab. 1.1).

Tableau 1.1. *Classement des pays producteurs de Ag (The Silver Institute, consulté en 2010).*

Top 20 des pays producteurs de Ag en 2009 (en tonnes)		
1.	Pérou	3513
2.	Mexique	2968
3.	Chine	2526
4.	Australie	1491
5.	Bolivie	1208
6.	Russie	1196
7.	Chili	1185
8.	Etats-Unis	1128
9.	Pologne	1111
10.	Kazakhstan	615
11.	Canada	556
12.	Argentine	485
13.	Turquie	397
14.	Suède	247
15.	Maroc	235
16.	Indonésie	218
17.	Inde	207
18.	Guatemala	119
19.	Iran	99
20.	Afrique du Sud	74

1.1.2. Secteurs d'application et demande mondiale de Ag

Depuis l'antiquité, l'homme emploie Ag dans la fabrication de pièces de monnaie (Thompson, 2003) et d'objets de valeur comme les bijoux et l'argenterie. Mais sa rareté et sa résistance à la corrosion ne sont pas les seules caractéristiques de Ag à avoir été exploitées depuis ces temps anciens. Son utilisation dans la fabrication de récipients permettant une meilleure conservation des denrées périssables, du vin, du lait et de l'eau ou plus tard, l'exemple des pionniers disposant des pièces en argent dans leurs gourdes témoignent de la connaissance de ses propriétés antibactériennes (Castellano et al., 2007 ; Forbes, 1953 ; Richard et al., 2002).

Etant le métal présentant la plus forte conductivité électrique et thermique, l'essor industriel a multiplié les voies d'applications de Ag (The Silver Institute). Aujourd'hui, ses propriétés électrochimiques sont par exemple exploitées en électronique (e.g. contacts électriques des claviers d'ordinateur, cellules photovoltaïques), en métallurgie (alliage) ou dans la fabrication d'explosifs (e.g. AgN_3, AgC_2). Certains sels, très photosensibles et très solubles dans l'eau comme $AgNO_3$ (2160 g/l) sont utilisés dans l'industrie photographique. La médecine profite des propriétés antibactériennes de Ag pour le traitement des plaies et des brûlures ou encore de sa capacité à former des alliages (amalgame dentaire).

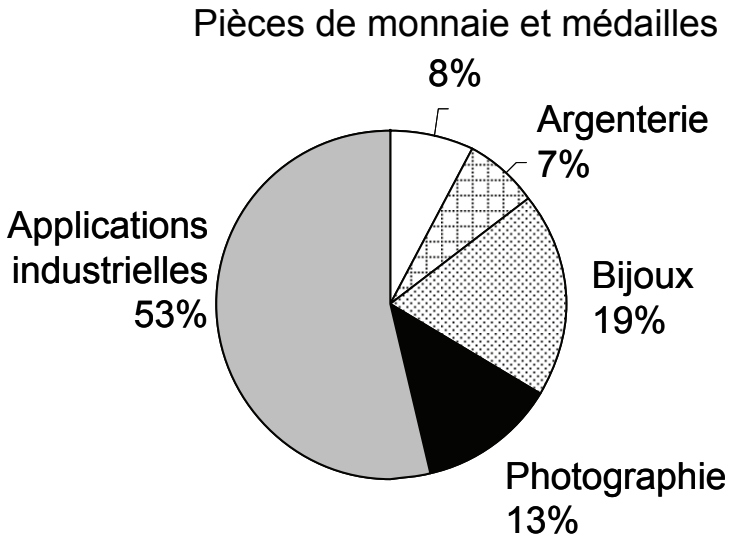

Figure 1.2. *Demande mondiale en Ag par secteur en 2008 (GFMS WSS, 2009).*

Sur la dernière décennie (2000-2009), la demande mondiale globale (mines, recyclage et stock) a oscillé entre 24 000 et 26 000 t par an (GFMS WSS, 2010). En fonction du cours de

Ag, le recyclage peut être intéressant économiquement pour du matériel contenant en Ag plus de 1 mg/kg (Petering et McClain, 1991 ; Purcell et Peters, 1998). En 2008, l'essentiel de la demande provient de l'industrie (53%, Fig. 1.2), un secteur en expansion depuis une dizaine d'années (Fig. 1.3) alors que le secteur de la photographie subit l'essor des technologies numériques. Ces dernières années, les demandes se sont intensifiées en Chine, en Inde et en Russie (GFMS WSS, 2009) où la rapidité du développement industriel devance la réglementation des rejets et le traitement des eaux polluées.

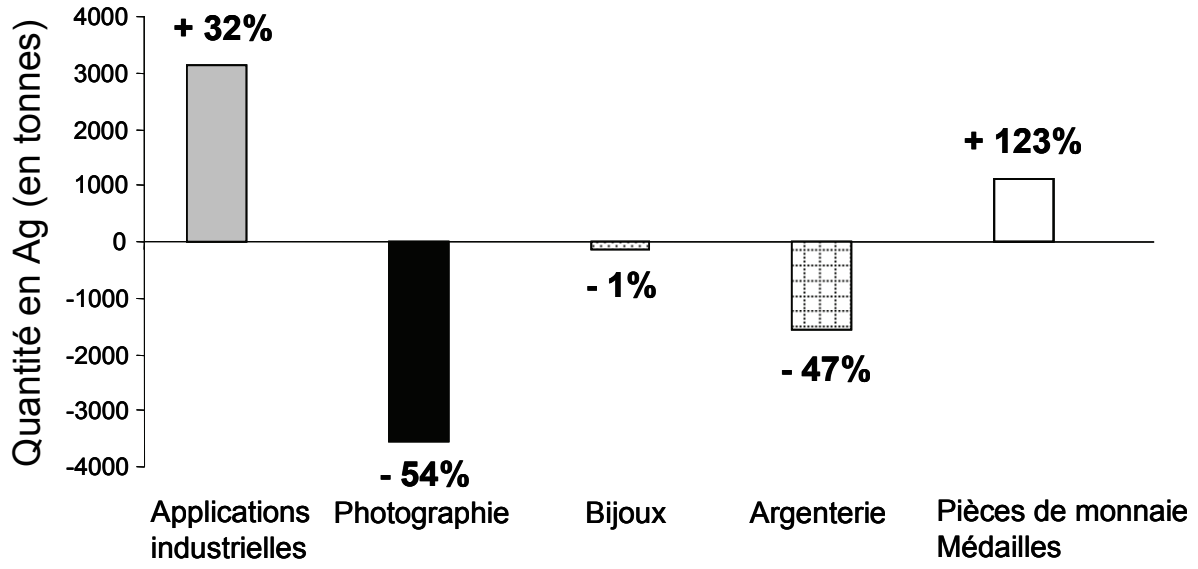

Figure 1.3. *Evolution de demande mondiale en Ag par secteur d'application entre 1999 et 2008 (GFMS WSS, 2009).*

Sur la base des imports et des exports incluant tous les marchés et les produits de Ag, Johnson et al. (2005) ont estimé que **les Européens sont les premiers utilisateurs de Ag** avec 7,4 g/personne/an, soit trois fois supérieur à la valeur mondiale (2,7 g/personne/an), devançant l'Australie (5,3 g/personne/an) et l'Amérique du Nord (5,2 g/personne/an).

1.1.3. Les sources en Ag pour l'environnement

Dans les systèmes non impactés, les concentrations en Ag dissous (Ag_D) sont de l'ordre du ng/l et de 10^{-1} mg/kg pour Ag particulaire (Ag_P) (Benoit et Rozan, 1999 ; Gobeil, 1999 ; Luoma et al., 1999 ; Rozan et Hunter, 2001). Ces faibles concentrations naturelles sont la conséquence de la capacité de Ag à se complexer rapidement avec le soufre, la matière

organique et les argiles (Hogstrand et Wood, 1998 ; Khan et al., 1995 ; Ratte, 1999). Par conséquent, on peut s'attendre à ce que les rejets anthropiques modifient localement ces niveaux naturels et aient des effets sur l'environnement.

Datées de 1978, les quantités en Ag émis dans l'environnement aux Etats-Unis, rapportées par Smith et Carson (1977) et par le service de santé publique américain (US PHS, 1990 ; Tab. 1.2), nous procurent une information historique sur la contamination en Ag des écosystèmes américains.

Tableau 1.2. *Estimation des rejets en Ag dans l'environnement aux Etats-Unis en 1978 (US PHS, 1990).*

Compartment and source category	Metric tons[a]
Atmosphere	
Metals production	30
Urban refuse combustion	10
Coal and petroleum combustion	9
Iron and steel production	7
Cloud seeding	3
Cement manufacture	2
Other	30
Aquatic	
Soil erosion (natural source)	438
uban runoff	72
Sewage treatment plants	70
Photographic developing	65
Photographic manufacture	54
Other	6
Terrestrial	
Photographic industry	630
Urban refuse	445
Sewage treatment	220
Metals production	165
Electrical contacts and conductors	150
Alloys and solders	60
Other	5

[a]Of the total silver released to the domestic environment in 1978 (2,470,700 kg), about 3.7% entered the atmosphere, 28.5% the aquatic environment, and 67.8% the terrestrial ecosystem.

La connaissance des apports passés en Ag est capitale pour estimer la pression de contamination subie par un écosystème et permet d'en comprendre les conséquences actuelles.

Ainsi, 2 470 tonnes de Ag ont été émises en 1978 dans les compartiments aquatique, terrestre et atmosphérique américain, dont 80% étaient d'origine anthropique (Tab. 1.2). La contribution des principales sources au rejet total est détaillée ci-dessous :

- 8% étaient liés à la **production des métaux**.

- 18% étaient liés à l'**érosion naturelle**.
- 30% étaient liés à l'**industrie photographique**.
- 33% étaient liés à l'**urbanisation** (dont 18% proviennent des déchets, 12% des eaux usées et 3% de l'eau de ruissellement).

Johnson et al. (2005) ont proposé un cycle anthropique mondial de Ag pour l'année 1997. Les auteurs ont estimé d'une part, les quantités de Ag produit, entrant dans des procédés de fabrication de produits, composant un produit fini et entrant dans un processus de gestion des déchets, et d'autre part, les quantités importées/exportées par continents et par pays. Leurs résultats indiquent que l'utilisation de Ag est en lien avec le niveau de développement du pays, par conséquent, l'Amérique du Nord et l'Europe sont les continents pour lesquels l'utilisation (par personne) de produits contenant Ag est supérieure aux autres continents. Cependant, leurs résultats ne permettent pas d'accéder à une information historique des émissions en Ag. Se limitant au cycle anthropique, ils posent la question du transport naturel de Ag, notamment dans régions où les sols sont riches en métaux.
A ce jour, aucune donnée publiée dans la littérature scientifique permettant de mettre en relation les apports naturelles et anthropiques en Ag dans un écosystème n'existe en Europe.

Parmi les différentes sources identifiées plus haut, **l'exploitation de gisements** et **l'érosion des terrains** riches en éléments chalcophiles (Pb, Cu, Fe , Zn, Au et As ; US PHS, 1990) peuvent être des voies de pollution en Ag. De plus, l'exploitation de Ag en tant que produit secondaire provoque des pertes plus importantes (~20%) que dans les mines de Ag (2-12% de perte ; Johnson et al., 2005). Johnson et al. (2005) soulignent cependant que cette estimation souffre d'un manque d'information spécifique et que des rejets dans l'environnement plus importants existent dans les pays en voie de développement comme le Laos, où les pertes lors de l'extraction de Ag sont supérieures à 60% (Wu, 2003). En outre, les fumées des fonderies peuvent également être des sources de pollution en Ag des milieux aquatiques par la voie atmosphérique (Hornberger et al., 1999). Bien que les plus faibles concentrations en Ag_D se mesurent dans les océans (e.g. <0,1 ng/l dans les eaux de surface de l'Océan Atlantique Est, Flegal et al., 1995), Ranville et Flegal (2005) ont mesuré un changement de 0,03 ng/l en 1983 à 1,3 ng/l en 2002 dans les eaux de surface au large de l'Asie. Les auteurs ont attribué cette variation au récent développement de l'Asie et aux apports atmosphériques pollués apportés du continent par les vents d'ouest.

Bien qu'il existe de fortes concentrations en Ag dans les cours d'eau drainant des mines (Jones, 1986), Ag est premièrement considéré comme un traceur des rejets urbains provenant des **stations de traitement des eaux** (Rozan et Hunter, 2001 ; Sañudo-Wilhelmy et Flegal, 1992). Selon les systèmes de collecte des eaux, ces effluents urbains ne sont pas seulement composés des eaux usées de la ville, mais il peuvent aussi comprendre les eaux de ruissellement et les rejets industriels, notamment ceux des **industries photographiques**, comme cela a été le cas dans la Baie de San Francisco (e.g. Flegal et al., 2007). Bien que des apports historiques en Ag aient été liés à l'industrie métallurgique, la source en Ag à l'origine de la contamination de la baie depuis la fin des années 1970 était une station de traitement des eaux recevant les rejets d'une industrie photographique (Hornberger et al., 1999 ; Squire et al., 2002). L'amélioration des stations d'épuration, qui traitent aujourd'hui plus de 94% de Ag contenu dans les effluents (Shafer et al., 1999), et la fermeture de l'usine ont depuis permis d'abaisser les niveaux de concentrations dans l'eau (de 18 ng/l en 1991 à 8 ng/l en 2005), les sédiments (de 2,6 mg/kg en 1978 à 0,3 mg/kg en 2005) et les bivalves (e.g. de ~100 mg/kg ps en 1978 à 1 mg/kg ps en 2005, *Macoma petalum*) (Flegal et al., 2007). Bien qu'une décontamination soit possible, les sédiments et l'eau interstitielle restent encore aujourd'hui des sources en Ag pour la baie (Kalnejais et al., 2010; Rivera-Duarte et Flegal, 1997; Rozan et Hunter, 2001 ; Wen et al., 1997). De plus, malgré l'efficacité du traitement des eaux, la quantité en Ag rejeté est proportionnelle à celle entrante (Shafer et al., 1999). Selon Adams et Kramer (1999), la fraction <10 kDa est fortement complexée par des ligands qui ne sont pas significativement affectés par les processus d'agrégation et de sorption utilisés dans le traitement des effluents.

Cependant, aucune étude ne distingue plus précisément la contribution des rejets domestiques aux rejets en Ag des eaux usées. Pourtant, la diminution de l'activité minière et l'arrivée de la photographie numérique dans les pays industrialisés d'une part, et l'expansion de l'utilisation de Ag comme biocide dans les produits domestiques (cosmétiques, déodorants, machines à laver...) d'autre part, devraient augmenter la contribution des émissions domestiques dans les rejets de station d'épuration vers les milieux aquatique (rejets d'eau traitée ou rejets directs), terrestre (60% des boues sont épandues en France ; Comité Sécurité Alimentaire de l'Aprifel, 2001) et atmosphérique (15% des boues sont incinérées en France ; Comité Sécurité Alimentaire de l'Aprifel, 2001).

En supplément des rejets atmosphériques d'iodure d'argent employés dans la lutte contre la grêle (Wisniewski et Sax, 1979; U.S. EPA, 1980; U.S. PHS, 1990), ou de manière beaucoup plus anecdotique, des rejets de ^{110m}Ag directement dans l'environnement aquatique par les centres nucléaires (IRSN, 2002), ce sont les rejets de nano-particules d'argent ou d'ions Ag^+ qui doivent être aujourd'hui quantifiés (Blaser et al., 2008). Un exemple vient des mesures préliminaires des concentrations en Ag dans les chaussettes anti-odeurs qui peuvent atteindre 1 360 mg/kg et dont 650 mg/kg peuvent être libérés immédiatement dans 500 ml d'eau distillée (Benn et Westerhoff, 2008). Certaines machines à laver diffusent Ag^+ dans l'eau de lavage pour en imprégner les vêtements (e.g. système Silver Wash, Samsung©). De plus, la multiplication des filtres domestiques couplant les propriétés du charbon et de Ag, de même que celle des générateurs de colloïdes de Ag pour le traitement de l'eau domestique ou encore le remplacement du chlore par Ag^+ dans les réseaux d'eau potable à la concentration de 60 µg/l (http://www.nanobiosilver.com/applications.html) sont autant de sources additionnelles dont les rejets dans l'environnement aquatique sont encore difficilement mesurables.

Si la connaissance de la forme chimique de Ag dans les rejets est importante, son comportement dans les différents gradients physicochimiques du milieu permet de connaître sa mobilité et sa disponibilité pour les organismes aquatiques.

1.1.4. Cycle biogéochimique de Ag dans les milieux aquatiques à l'interface continent-océan.

Dans les milieux naturels, la distribution de Ag est dominée par des processus de sorption, de complexation et de précipitation avec des matières inorganiques ou organiques.

L'ion Ag^+ peut former des complexes inorganiques avec des anions tels que les chlorures (Cl^-), les sulfures (SH^-), les fluorures (F^-), les hydroxydes (OH^-) et les carbonates (CO_3^{2-}) et se lier à la matière organique, seule une fraction faible reste dans sa forme libre. Selon Bell et Kramer (1999), la phase colloïdale, composée de matériel organique et inorganique, est la phase principale de Ag en solution. Cependant, les concentrations dissoutes en Ag sont généralement 10^5 fois inférieures aux concentrations particulaires (Tappin et al., 2010 ; Wen et al., 1997).

<u>En rivière</u>**,** Ag_D se complexe avec :

-les sulfates en milieu oxydé et les sulfures en milieu réduit. Le complexe Ag_2S étant insoluble, il précipite et piège Ag.

-la Matière Organique (MO) et principalement les colloïdes organiques portant des groupements thiols (Adams et Kamer, 1998 ; Bell et Kramer, 1999 ; Wen et al., 1997, 2002).

-les chlorures qui forment avec Ag des chlorocomplexes neutres $AgCl^0$ et relativement peu de complexes chargés négativement ($AgCl_2^-$; Fig.1.4 ; Barriada et al., 2007). Le complexe neutre AgCl précipite.

Lié à la phase particulaire, Ag_P est principalement porté par les oxyhydroxides de Fe/Mn et les sulfures (77 ± 6%, Wen et al., 1997).

Dans le gradient de salinité estuarien, les chlorures déterminent la distribution de Ag :

- par la formation de chlorocomplexes (AgCl, $AgCl_2^-$, $AgCl_3^{2-}$, $AgCl_4^{3-}$; Fig. 1.4.). Dès les faibles salinités, le complexe AgCl ne précipite plus. Les cycles d'association/dissociation entre les chlorures et Ag maintiennent Ag sous forme dissoute (Cowan et al., 1985, Barriada et al., 2007).

- par des processus de désorption de Ag_P (Andren et Armstrong, 1999 ; Wen et al., 1997). L'argent nouvellement dissous peut alors s'adsorber ou être incorporé dans les cellules phytoplanctoniques, modifiant son temps de rétention dans l'estuaire (Eisler, 1996).

- par la diminution des associations entre Ag et les colloïdes organiques lorsque la salinité augmente (Wen et al., 1997).

Cependant, d'importantes concentrations en matières en suspension (MES) sont susceptibles de modifier la distribution de Ag dans un gradient de salinité. Ainsi, Luoma et al. (1995) ont déterminé que 20 g/l de MES piègent >99% de Ag_D à 80 µg/l en 24 h et à salinité 20.

En mer ouverte, les concentrations en Ag indiquent un enrichissement en profondeur. Dans l'Océan Atlantique Est, ces concentrations augmentent de 0,03 ng/l en surface à 1,04 ng/l à 4 600 m de profondeur (Flegal et al., 1995). Cette enrichissement est aussi constaté dans l'Océan Atlantique Nord (de 0,07 à 0,78 ng/l), dans l'Océan Pacifique (de 0,11 à 5,9 ng/l), dans l'Océan Atlantique Equatorial et du sud-ouest (de 0,58 à 3,5 ng/l) et dans la mer de Béring (de 0,29 à 11 ng/l) avec cependant des anomalies de surfaces correspondant à des « upwellings » (Ndung'u et al., 2001 ; Rivera-Duarte et al., 1999 ; Zhang et al., 2004). Certaines anomalies des concentrations en Ag peuvent provenir de masses d'eau côtières ayant reçu des rejets urbains (Sañudo-Whilhemy et Flegal, 1992) ou des apports atmosphériques (Ranville et Flegal, 2005).

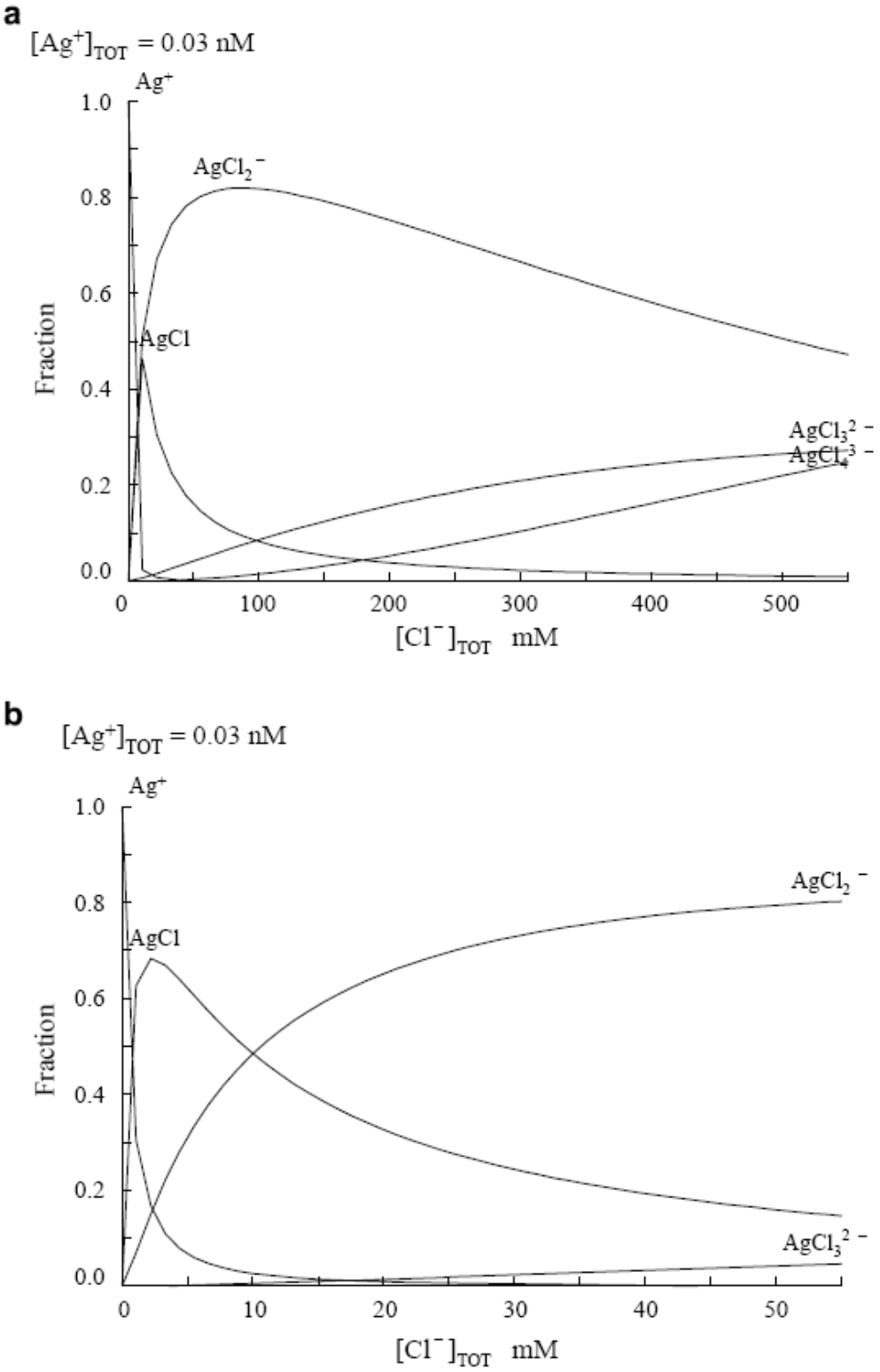

Figure 1.4. *Distribution des chlorocomplexes de Ag en fonction de la concentration des chlorures dans la gamme (a) 0-0,55 mol/l et (b) 0-0,055 mol/l (Barriada et al., 2007).*

1.1.5. Toxicité de Ag pour les organismes et bioaccumulation

Considéré comme un des métaux les plus toxiques avec Hg, Cd, Cu et Cr (VI) (Eisler, 1996 ; Ratte, 1999), Ag fait partie de la liste des polluants prioritaires selon l'U.S. Environmental Protection Agency depuis 1977. En Europe, Ag n'est pas inclus parmi les substances prioritaires (directive 2008/105/EC des substances prioritaires du parlement Européen et du conseil, annexe de la Directive Cadre sur l'Eau) mais appartient à la liste II des substances « qui ont sur le milieu aquatique un effet nuisible qui peut cependant être limité à une certaine zone et qui dépend des caractéristiques des eaux de réception et de leur localisation » (Directive n°76/464/CEE du 04/05/76 concernant la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique de la Communauté).

La toxicité de Ag pour les organismes vient de sa capacité à se lier aux groupements thiols (-SH) des enzymes et par là même les rendre inactives, ou à entrer en compétition avec l'oxygène comme accepteur d'hydrogène dans le cas de la glucose oxydase (Smith et Carson, 1977). La forme chimique de Ag (spéciation) détermine sa biodisponibilité, qui se définit par les processus physiques, chimiques et biologiques qui permettent à Ag de franchir les barrières biologiques de l'organisme par voie directe (i.e. branchies, peau) ou par voie trophique (*via* l'estomac et les intestins). L'accumulation de Ag dans un organisme dépend d'une part de la biodisponibilité de Ag et d'autre part des moyens de défense de l'organisme (i.e. piégeage, excrétion).

1.1.5.a. La toxicité de Ag

Dans les milieux aquatiques, Ag est un des éléments les plus toxiques pour les premiers stades du développement, pour les bactéries, le phytoplancton, et les invertébrés (Bryan, 1984 ; Eisler, 1996 ; Luoma et al., 1995 ; Mc Donnell et Russell, 1999 ; Ratte, 1999 ; Richards, 1981). Bien que n'étant pas un métal essentiel, Ag s'accumule très rapidement dans le phytoplancton, les macroalgues, et les invertébrés (Hg>Ag>Zn>Cd>Cu ; Bryan, 1984 ; Fisher et al., 1984 ; Wang, 2001) et montre une distribution verticale dans la colonne d'eau océanique semblable à celle des nutriments (e.g. Zhang et al., 2004). Dans les cellules phytoplanctoniques, Ag peut être piégé sur les parois cellulaires et/ou libre dans le cytoplasme. Sa distribution dans la cellule algale va déterminer sa toxicité pour la cellule

phytoplanctonique (Campbell, 1995, Lee et al., 2005) de même que sa biodisponibilité pour les prédateurs zooplanctoniques herbivores (Connell et al., 1991 ; Fisher et Wang, 1998 ; Xu et Wang, 2004).

Parmi les différentes formes chimiques de Ag, c'est la forme ionique Ag^+ qui est considérée comme la plus toxique (e.g. Leblanc et al., 1984 ; Rodgers et al., 1997 ; Wood et al., 1994). De nombreux tests de toxicité sont donc basés sur l'exposition des organismes à $AgNO_3$ (i.e. Ag^+ ; e.g. Wood et al., 1996). Cependant, cette forme, mesurée par électrode, ne représente qu'une très faible minorité dans la spéciation de Ag_D dans les eaux usées et les eaux naturelles (e.g. Barriada et al., 2007 ; Chudd, 1983; Lytle, 1984), par exemple :

-dans les eaux usées et les effluents des industries photographiques, Ag sera majoritairement lié aux thiosulfates présents avec une très forte affinité (log *K* de 8,8 ; 13,7 et 14,2 respectivement pour les complexes de mono-, di-, et tri-thiosulfate ; Morel et Hering, 1993),

-dans les eaux salées estuariennes et océaniques, Ag forme des complexes avec le chlore (log *K* de 3,7 à 5,5 respectivement pour les complexes de mono- à tetra-chlore ; Barriada et al., 2007).

La spéciation de Ag joue un rôle dans son accumulation dans les organismes aquatiques et dans l'expression de sa toxicité (e.g. Hogstrand et al., 1996 ; Leblanc et al., 1984). **La détermination des niveaux de concentration en Ag dissous dans un gradient estuarien (i.e. où les formes dissoutes majoritaires vont être fonction de la salinité) et son accumulation dans des espèces clés restent un enjeu majeur de la recherche sur le comportement de Ag en milieu naturel (i.e. pour une exposition des organismes à des formes et des niveaux de concentration de Ag différentes de ceux employés dans les tests de toxicité).**

En effet, bien que le modèle de l'ion libre soit communément admis lorsqu'il est question de l'exposition des organismes, la complexation de Ag avec des chlores ou les groupes thiols peut modifier la réponse des organismes et la bioaccumulation de Ag :

- selon Fortin et Campbell (2000), l'accumulation de Ag à court terme (<1h ; 1 µg Ag/l) chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* est d'abord fonction de la concentration en Cl^- jusqu'à une concentration limite en Ag de 10 µg/l, avant d'être fonction de la concentration de ion libre Ag^+.

- l'accumulation de Ag dans les branchies de l'anguille européenne est trois fois supérieure pour des formes complexées avec des chlores plutôt que pour la forme ionique Ag^+ (Wood et al., 2002).

- selon certains auteurs, la neutralité des complexes $AgCl_{aq}$ et $AgSH_{aq}$ pourrait faciliter leur diffusion à travers des membranes cellulaires (Bell et Kramer, 1999 ; Cowan et al., 1985 ; Reinfelder et Chang, 1999), bien qu'il existe des contres exemples comme pour l'algue verte, pour qui aucun transport passif, pour le complexe neutre, ou facilité, pour le complexe anionique $AgCl_2^-$, n'a été mis en évidence (Fortin et Campbell, 2000).

L'accumulation de Ag chez les poissons est liée à la similarité de charge entre Ag^+ et les éléments essentiels Na^+ et Cu^+ (Bury et Wood, 1999), ce qui explique la forte toxicité du nitrate d'argent (CL50 9,1 µg/l) pour la truite arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*) alors que les sels de thiosulfate de Ag, de chlorure de Ag et de sulfate de Ag présentent des toxicités moindres (CL50>100 000 µg/l) (Hogstrand et al., 1996 ; Hogstrand et Wood, 1998 ; Wood et al., 1994, 1996). Dans les « cellules à chlorures », responsables de l'osmorégulation des poissons, Ag se lie à l'enzyme Na^+/K^+ adenosine triphosphatase et à l'enzyme anhydrase carbonique (transport de Na^+ et Cl^-) et provoque leur inactivation (Morgan et al., 2004 ; Bielmyer et al., 2007). Un moyen de détoxication de Ag est sa séquestration par les métallothioneines (Fowler et Nordberg, 1986) dont le foie représente la voie catabolique et est, en conséquence, l'organe d'accumulation de Ag (Baudin et al., 1994).

Les tests de toxicité des métaux privilégient généralement la contamination des organismes par la voie directe pour déterminer les seuils létaux. Les concentrations utilisées sont très supérieures aux niveaux mesurés dans l'environnement (jusqu'à six ordres de grandeurs). Hook et Fisher (2001) ont comparé la réponse de zooplanctons marins (copépodes) et d'eau douce (cladocères d'eau douce) face à une exposition directe et trophique à Ag. Dans les tests classiques de toxicité, une concentration en Ag_D (de forme Ag^+) de 40 000 ng/l en eau salée et de 400 à 15 000 ng/l en eau douce est nécessaire pour tuer respectivement 50% de la population du zooplancton marin *Acartia tonsa* et du zooplancton d'eau douce *Daphnia magna* en 96 h (LC50 96h ; U.S. EPA, 1980). Cependant, la toxicité d'un métal peut aussi se mesurer sur les paramètres de la population. Le succès de reproduction de ces deux crustacés est diminué de moitié dès lors qu'ils consomment des algues baignées dans une eau à seulement 100 ng/l pour les copépodes et à 50 ng/l pour les cladocères (Hook et Fisher, 2001). Lorsque l'exposition est directe, Ag se distribue sur leur exosquelette alors que lors d'une

exposition par voie trophique, Ag atteint leurs ovaires (Hook et Fisher, 2001). La toxicité des métaux sur la reproduction est en lien avec l'affinité du métal pour les sulfures (Hg>Ag>Cd>Zn>Mn ; Fig. 1.5). En se fixant au groupe thiol, Ag inactive l'enzyme liée à la vitallogénèse chez ces crustacés (Hook et Fisher, 2002).

Ces seuils de toxicité déterminés expérimentalement en laboratoire sont critiqués d'une part pour l'amplitude des concentrations utilisées (supérieures aux concentrations environnementales) et d'autre part pour l'absence de ligands naturels, comme les composés soufrés qui limitent la disponibilité de Ag (Adams et Kramer, 1998 ; Erickson et al., 1998 ; Purcell et Peters, 1998 ; Rodgers et al., 1997). Cependant, l'observation à long terme (1974-1989) de la maturation des gamètes du bivalve *Macoma baltica* dans la Baie de San Francisco confirme, *in situ*, que le succès de reproduction est diminué en conséquence de la bioaccumulation de Cu et Ag (Hornberger et al., 2000).

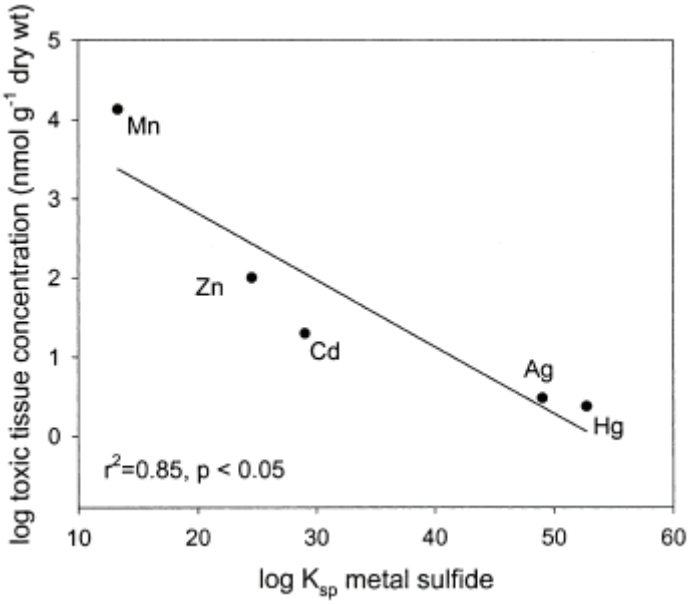

Figure 1.5. *Relation entre la plus faible augmentation de la concentration métallique dans les tissus des copépodes (Acartia tonsa) induisant une baisse de la production d'œufs et l'affinité de ces métaux pour les sulfures (Hook et Fisher, 2002).*

1.1.5.b. Différences interspécifiques de l'accumulation de Ag en comparaison de Cd, exemple des huîtres et des moules

La voie majoritaire de contamination, l'accumulation et la toxicité de Ag sont différentes entre les espèces (Eisler, 1996 ; Tab. 1.3). De nombreux programmes de surveillance utilisent

les moules et les huîtres comme bioaccumulateurs des polluants dans le milieu (e.g. National Status and Trends, Réseau National d'Observation, World Mussel Watch ; Cantillo, 1998). Dans le milieu, ces bivalves sont généralement exposés aux métaux dissous et particulaires (Amiard-Triquet et al., 1992 ; Ettajani et al., 1992). Afin de définir la contribution de la voie trophique et directe, les expérimentations confrontent généralement les organismes à une exposition directe, trophique et aux deux voies de contamination simultanément. La voie directe est considérée comme la voie majoritaire d'accumulation :

- en Ag et Cd chez la moule *Mytilus galloprovincialis* (Fisher et al., 1996),
- en Cd chez la moule *Mytilus edulis* (Borchardt, 1983; Janssen et Scholz, 1979 ; Riisgård et al., 1987),
- en Ag pour l'huître *Crassostrea virginica* (Abbe et Sanders, 1990)
- en Ag et en Cd pour l'huître *Crassostrea gigas* (Ettajani et al., 1992 ; Martoja et al., 1988 ; Metayer et al., 1990 ; Strady, 2010).

La contribution de la voie trophique dans la contamination de la moule *Mytilus edulis* est estimée de 0,2-0,5% (Borchardt, 1983) à 10% (Jansen et Scholz, 1979). Pour Wang et al. (1996), la capacité d'assimilation de Ag par les moules à partir du seston est de 5 à 18%.

Tableau 1.3. *Accumulation de Ag pour différentes espèces aquatiques (Luoma, 2008).*

Organism	Percent of ingested silver assimilated from food	Half-life of loss from body (days)	Transfer efficiency from food (percent)*
Invertebrate predators:			
Snail	69		
Snow crab	90	148	57
Marine oysters	44	70	11
Polychaete worms	24–34		
Marine clams	22–43	47–70	5–7
Marine mussels	14–23	13–35	1–3
Sea urchin	34	47	2
Zooplankton	17–43	1–3	0.2
Fish predators	9	30	0.04

*Uptake and loss of silver differ among species, the combination of which affects the likelihood that each species will accumulate a higher concentration of silver in its body than was in its prey (trophic transfer efficiency). Higher assimilation from food means more silver is taken up from food; and longer half-lives mean the silver is held longer by the organism before loss. High assimilation and longer half-lives result in a high potential to accumulate high concentrations of silver. Data from Wang et al., 1996; Wang, 2002; Reinfelder et al., 1997; Wang and Fisher, 1999; Reinfelder et al., 1998; Griscom et al., 2002; and Cheung and Wang 2005].

Cependant, on peut envisager le cas d'une contribution trophique plus importante où les bivalves d'un milieu non contaminé se nourriraient sur un matériel allochtone contaminé. Dans cette situation, les concentrations dissoutes dans l'environnement de l'huître ne correspondent pas avec celles qui sont la cause des fortes concentrations atteintes dans les algues dont elle se nourrit.

De plus la qualité du matériel ingéré (minéral ou organique, vivant ou mort) est une donnée importante pour estimer la disponibilité des métaux pour les organismes. Les particules minérales recouvertes d'un film organique peuvent contribuer à l'accumulation par la voie trophique, d'autant plus que le temps de rétention dans le système digestif est long et que les métaux ont la capacité à se désorber à pH 5 (Gagnon et Fisher, 1997 ; Wang et al., 1995).

De la même manière, le temps de rétention des cellules algales dans le système digestif peut être à l'origine des différences inter-espèces. Reinfelder et al. (1997) montrent une l'assimilation supérieure de Ag et Cd ingérés par les huîtres *Crassostrea virginica* (respectivement 44±7,9% et 69±8,6%) par rapport aux moules *Mytilus edulis* (Ag : 13±5,8% et Cd : 37±5,2%). Plutôt qu'une capacité d'assimilation différente entre les deux espèces, les auteurs attribuent à l'huître un temps de digestion supérieur à celui de la moule. Ainsi, l'huître mobilise les Ag et Cd liés aux protéines membranaires en plus des formes libres dans le cytoplasme des algues (directement disponibles).

L'accumulation des métaux dans les organismes est la résultante de l'accumulation et l'élimination des métaux. L'élimination de Ag et Cd est inférieure chez les huîtres qui après 10 jours retiennent toujours 40% de Ag et 60% de Cd ingérés alors que seuls 1% de Ag et 25% de Cd restent accumulés chez les moules (Reinfelder et al., 1997). La période de demi-vie biologique de ces métaux est supérieure à 70j pour Cd et Ag chez les huîtres *C. virginica* et de 14j pour Cd chez la moule *M. edulis* (Reinfelder et al., 1997 ; Tab. 1.3). Par similarité avec ce dernier, le temps de demi-vie de Ag chez *M. edulis* peut être estimé égal, soit 14j, correspondant à celui mesuré chez l'espèce *M. galloprovincialis* (Fisher et al., 1996).

Ces différences d'accumulation entre les espèces d'huîtres et de moules sont aussi constatées *in situ* au niveau mondial (Cantillo, 1998). Les huîtres *Crassostrea virginica* présentent des concentrations 15 et 1,8 fois supérieures respectivement pour Ag et Cd aux moules *Mytilus edulis* prélevées aux mêmes sites (Long Island ; O'Connor, 1992, 1993). De plus, il existe aussi des différences entre espèces proches tels que les moules *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus* d'un même site (Lobel et al., 1990).

La seule mesure de l'accumulation de Ag ne permet pas d'appréhender sa toxicité sur l'organisme. Chez l'huître *C. gigas*, la plus grande partie de Ag est immobilisée sous forme

de sulfure dans les amoebocytes (cellules qui ont un rôle dans la défense des mollusques contre les pathogènes) et dans les lames basales (sur lequel repose l'épithélium indiquant qu'une fraction importante du polluant (environ 70%) ne peut être transférée aux niveaux trophiques supérieurs (Martoja et al., 1988). Cependant, l'accumulation de Ag peut induire une diminution de la croissance des huîtres en comparaison d'huîtres vivant dans des conditions non contaminées (Sanders et al., 1990). Pour la moule *M. edulis*, Ag accumulé par la voie trophique se fixe sur les granules sous forme Ag_2S dans les cellules du tube digestif alors que Ag est stocké sous forme insoluble dans les reins lors de la contamination par voie directe (George et al., 1986; Wang et al., 1996). Enfin, des paramètres tels que le développement estival des gonades peuvent avoir une influence très importante sur les concentrations métalliques des bivalves (Páez-Osuna et al., 1995).

1.1.5.c. Exposition humaine et normes d'exposition

Chez l'homme, l'exposition chronique des tissus à Ag se traduit par une coloration bleue grise causée par la déposition de Ag dans les tissus, et se nomme argyrie (Smith et Carson, 1977). Les toxicités aiguës chez l'homme sont seulement le résultat de causes accidentelles de surdose médicale (Smith et Carson, 1977).

Les normes de qualité environnementale provisoires (NQEp ; directive 76/464) sont égales à la concentration en Ag_D du bruit de fond géochimique additionnée de 50 ng/l. Les normes Américaines sont de 1920 ng/l en eau douce et 3200 ng/l en eau salée (pour $CaCO_3$ = 100 mg/l) (U.S. EPA). Les normes de consommation pour l'eau potable sont de 50 à 200 µg/l en Ag total (U.S. EPA). La recommandation est une consommation en Ag inférieure à 0,005 mg/kg/jour, soit 400 µg pour une corpulence de 80 kg (U.S. EPA). Aux Etats-Unis, la consommation quotidienne de Ag est de 70-88 µg dont 35-40 µg proviennent de la nourriture (US EPA, 1980). On peut remarquer ici la limite des recommandations quant à la toxicité relative de Ag selon sa spéciation et la durée de l'exposition.

1.1.6. L'essor du nano-argent

De nos jours, Ag est incorporé dans de nombreux objets de la vie courante (e.g. brosses à dents, claviers, équipements sportifs) exploitant ses propriétés biocides tout en restant considéré comme non toxique pour l'homme (Blaser et al., 2008). Les désinfectants à base de

Ag et Cu sont utilisés pour le traitement des systèmes de distribution d'eau dans les hôpitaux et les hôtels où ils permettent de réduire les agents infectieux comme les légionelles (Gupta et Silver, 1998). Ils sont aussi employés dans les élevages de volailles ou encore d'huîtres (Gupta et Silver, 1998). Dans ce dernier cas, un bain purifiant dans une eau additionnée de ces désinfectants permet d'éliminer les virus *Vibrio sp*. des naissains d'huîtres.

Au Mexique, une solution de colloïdes de Ag (Microdyn, 2 mg Ag/l) est vendue avec le mérite de désinfecter et d'éliminer les spores et les parasites de l'eau, ou des fruits et légumes lavés avec cette eau, en moins de 10 minutes. En 2001, l'entreprise NVID International, Inc (Recherche et Développement sur la purification de l'eau et la désinfection, Floride) a été autorisée à utiliser les ions Ag^+ comme agent de désinfection pour des applications commerciales et industrielles (e.g. fontaines à eau, piscines ; http://www.allbusiness.com/legal/trial-procedure-suits-claims/6152508-1.html). Cette entreprise a menée des tests de désinfection sur le système d'eau potable de la ville de Celaya au Mexique. Le traitement de l'eau est réalisé par l'injection de Ag ionique jusqu'à atteindre la concentration de 60 µg/l, inférieure à la norme de consommation américaine de 100 µg/l (US EPA ; http://water.epa.gov/drink/contaminants/) et permet de ne plus utiliser de chlore.

Des systèmes individuels de traitement de l'eau sont en vente sur internet. Des systèmes portables (http://www.katadyn.com/frfr/produits-katadyn/) permettent aux randonneurs de se passer de faire bouillir l'eau ou d'y ajouter des comprimés d'iodine afin d'éliminer les bactéries de l'eau qu'ils voudraient consommer, la simple filtration et libération en continue d'ion Ag^+ permettant de conserver l'eau potable. Des générateurs individuels de colloïdes de Ag de taille nanométrique sont proposés pour purifier les eaux domestiques (bain, lessive) ou comme supplément alimentaire quotidien « vitamine/minéral » (http://thesilveredge.com/howto.shtml). Dans ce dernier cas, certains consomment 100 ml d'eau par jour à la concentration de 10-20 µg Ag/l tout au long de l'année, soit 1 à 2 µg/jour (http://www.zealandpublishing.co.nz/colloidal%20silver%20bottle%20adv.html), ce qui reste inférieur à la limite de consommation préconisée de 0,005 mg/kg/jour ou ~400 µg pour un homme moyen mais pose néanmoins la question d'une contamination chronique. De même, cette utilisation contemporaine de Ag met en doute les concentrations moyennes mesurées chez l'homme de 0,05 µg/kg (en poids frais d'un américain moyen ; Tripton et Cook, 1963), de même que les doses ingérées par jour estimées à 27 µg (Hamilton et al, 1972) et 88 µg (Kehoe et al., 1940).

Le développement des nanotechnologies a fait naître un nouvel intérêt pour les propriétés antibactériennes de Ag. Les nanoparticules de Ag (i.e. 1-100 nanomètres) utilisées en traitement de surface des ustensiles de chirurgie et des implants (e.g. pacemaker) réduisent les risques d'infection (Gibbons et Warner, 2005). Incorporées aux bandages, elles permettent de lutter contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et ont une action à large spectre (Vermuelen et al., 2007). Récemment, une solution de colloïdes de Ag « non toxique » (« Nano silver-titanium dioxide coating » NSTDC) a été vaporisée comme spray désinfectant dans le métro de Hong Kong en mesure d'hygiène contre le virus H1N1, les moisissures et une large gamme de bactéries (http://www.naturalnews.com/020851.html). Les nanoparticules de Ag peuvent aussi être incorporées à la matrice polymère des vêtements afin de lutter contre les odeurs. La demande en Ag des produits utilisant ses propriétés antibactériennes était de 30 t/an en 2004 (Winnaker et Kühler, 2006) et est attendue atteindre 110 à 230 t/an en 2010 pour l'Union européenne (Blaser et al., 2008), la consommation des Etats-Unis pouvant être considérée comme similaire.

En conséquence, l'utilisation de Ag^+ dans le traitement des réseaux d'eau potable, la distribution de générateurs individuels de nanoparticules ou de colloïdes de Ag ou encore l'expansion des nanotechnologies risquent à court et moyen terme d'aboutir à des rejets non contrôlés en Ag dans ses formes les plus toxiques pouvant avoir des conséquences sur la santé animale et humaine et sur le fonctionnement des stations de traitement des eaux employant des processus biologiques**. L'absence d'information sur la spéciation de Ag dans les normes de consommation ne permet pas d'appréhender sa toxicité réelle de même que ses effets à long terme notamment dans un contexte de pollution multiple.**

1.2. L'estuaire de la Gironde, un modèle de terrain idéal pour l'étude de Ag

1.2.1. Les estuaires, des zones contrastées et vulnérables d'intérêt économique

A l'interface entre les eaux continentales et les eaux océaniques, les estuaires se définissent comme des zones très contrastées, dynamiques et à forts gradients géochimiques. Ce sont des

systèmes peu profonds à l'interface entre continent, océan et atmosphère. Un estuaire est défini comme un bras de mer pénétrant une vallée fluviale jusqu'à la limite de propagation de la marée (Fairbridge, 1980). Son hydrodynamique résulte de la confrontation ou de l'addition du débit fluvial et de la marée. Bien qu'un effet remarquable du mélange des eaux salées marines et des eaux douces fluviales soit la création d'un gradient de salinité, c'est la limite de propagation dynamique de la marée sur les eaux fluviales qui en détermine sa limite amont.

Cette position d'interface est à l'origine de la forte variabilité temporelle de l'hydrologie:
- à l'échelle de la journée, en raison de l'alternance des marées et, dans un degré moindre, des variations des débits fluviaux.
- à l'échelle mensuelle et saisonnière, selon l'évolution des coefficients de marée, l'existence de périodes de crue ou d'étiage.
- à l'échelle interannuelle et pluriannuelle, en lien avec le changement climatique global, les activités et les aménagements anthropiques régionales, les variations de la dérive Nord Atlantique (NAO) ou encore les phénomènes météorologiques cycliques (El Niño-La Niña).

Les fluctuations de l'hydrologie conditionnent les apports fluviaux (e.g. particules, nutriments et contaminants), les temps de résidence, les caractéristiques physico-chimiques et les peuplements des estuaires (e.g. zooplancton ; Castel, 1995 ; Schäfer et al., 2002 ; Sottolichio et Castaing, 1999). En effet, ces eaux de transition offrent une multitude d'habitats pour la vie aquatique et connaissent généralement une importante production secondaire zooplanctonique qui en font des zones de nurserie idéales pour le développement des larves et juvéniles de poissons (Elliott et Hemingway, 2002). D'autre part, ce sont des voies de communication historiques où se sont développés des aménagements industriels et portuaires (Elliott et Ducrotoy, 1991).

Les estuaires éveillent un grand intérêt économique et social. Ne représentant que 0,5% de la surface des océans, ils contribuent néanmoins à 20% de la valeur économique des écosystèmes marins (Costanza et al., 1997). Les estuaires connaissent une forte pression anthropique. Les pêches estuariennes intensives des espèces amphihalines et autochtones ont été dénoncées dans la mise en danger de certaines espèces (Wilson, 2002). L'anthropisation des systèmes peut apporter des pollutions thermiques (e.g. centres nucléaires), microbiologiques (Stations de Traitement des Eaux, STE), organiques (pesticides, hydrocarbures aromatiques, produits chimiques bromés, composés aromatiques

organochlorés, médicaments…provenant de l'agriculture, des STE, du matériel électrique…) et inorganiques (rejets de métaux liés aux activités minières et industrielles et aux rejets de nutriments) (e.g. Genin et al., 2003).

1.2.2. Situation géographique de l'estuaire de la Gironde

L'estuaire de la Gironde (Fig. 1.6), situé dans le Sud-Ouest de la France, est le plus grand estuaire d'Europe Occidentale (Salomon, 2002). Il fait partie du bassin hydrographique Adour–Garonne identifié pour l'application de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE ; EU, 2000). Formé par la confluence de la Garonne (L=647 km) et de la Dordogne (L=490 km), il draine un bassin versant de 79 000 km². Les trois sous bassins principaux sont celui de la Garonne (51 500 km²), de la Dordogne (15 000 km²) et de l'Isle (7 000 km²) (Schäfer et al., 2002). Depuis le Bec d'Ambès jusqu'à l'embouchure, l'estuaire au sens géographique (Gironde) a une longueur de 75 km. L'influence de la marée s'étendant jusqu'aux sites de La Réole (Garonne), Pessac sur Dordogne (Dordogne) et Guîtres (Isle) (Fig. 1.6), sa longueur effective est de 175 km.

1.2.3. Morphologie de l'estuaire de la Gironde

Peu profond, l'estuaire de la Gironde est un estuaire de type plaine côtière, structuré latéralement par la présence de chenaux, de vasières latérales, de zones intertidales de substrat meuble, de zones confinées humides et de mares temporaires sur banc ou vasière (Salomon, 2002).

Les deux rives présentent des morphologies différentes. La rive gauche (rive Médoc) est constituée de terrasses fluviatiles sablo-graveleuses du Pléistocène, basses et faiblement ondulées, séparées du fleuve par une frange de marais et d'alluvions actuelles. La rive droite (rive Saintonge) est formée d'une succession de formations calcaires du Crétacé Supérieur, modelées en falaises par l'érosion fluviale et d'une zone de marais correspondant aux dépôts détritiques au Nord de Blaye (Salomon, 2002).

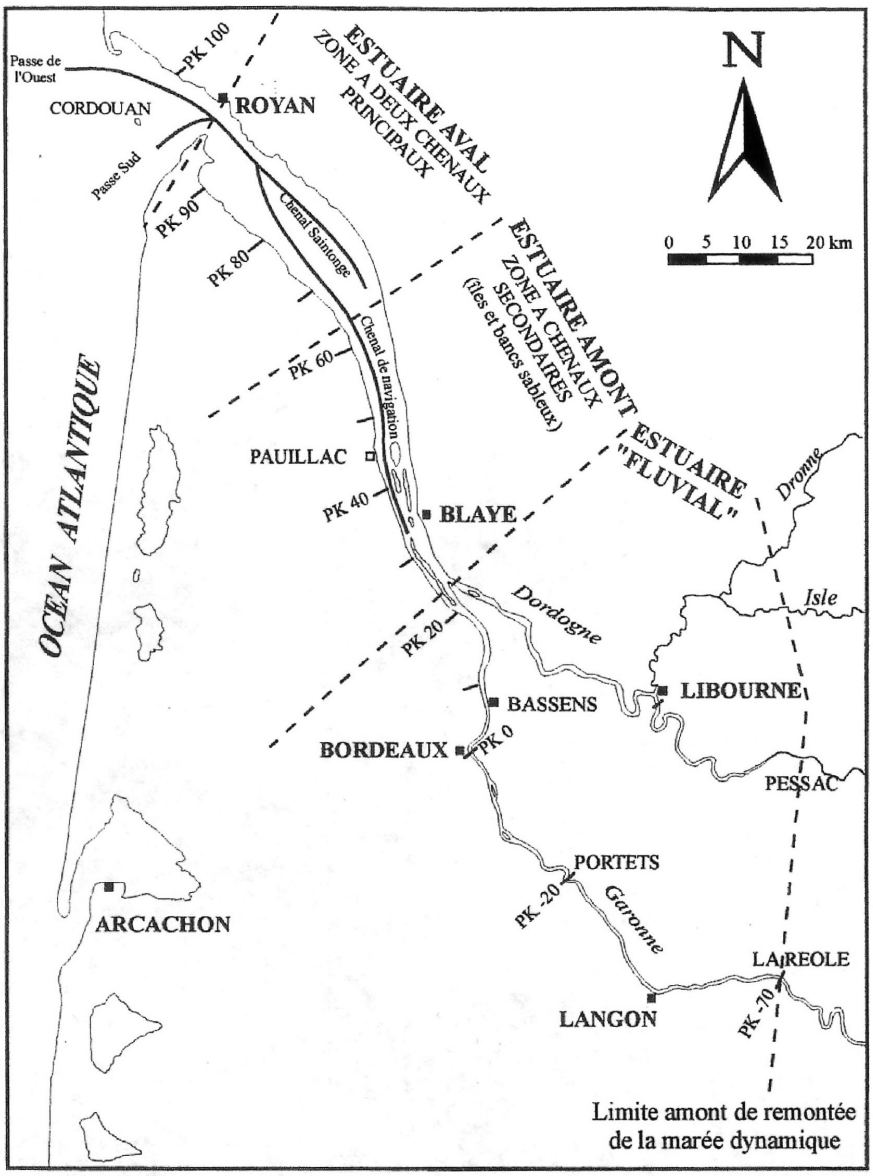

Figure 1.6. *L'Estuaire de la Gironde et ses affluents majeurs. PK : Point Kilométrique, distance en km depuis le pont de pierre à Bordeaux (Allen, 1972).*

L'estuaire est communément divisé en quatre zones distinctes (Fig. 1.6), de l'amont vers l'aval :

- l'estuaire fluvial, entre les différentes entrées fluviales et le Bec d'Ambes (PK26).
- l'estuaire amont, du Bec d'Ambes (PK26) à Saint-Christoly (PK65). Comprenant des chenaux anastomosées séparés par un système d'îles et de barres sableuses allongées parallèlement aux rives. Deux chenaux sont cependant bien individualisés :
- le chenal de navigation du côté de la rive gauche, d'une profondeur d'environ 10 m,
- le Chenal de Saintonge du côté de la rive droite, moins profond et présentant des hauts fonds qui en font une voie de navigation moins importante.

- l'estuaire aval, de Saint-Christoly (PK65) à l'embouchure. Les deux chenaux sont individualisés par une ligne de bancs et de hauts fonds et se rejoignent entre la Pointe de Grave et Royan pour une profondeur supérieure à 30 m.
- l'embouchure, à l'aval de la Pointe de Grave. Le chenal principal ou la Passe de l'Ouest contourne le plateau rocheux de Cordouan par le nord. La Passe Sud est moins profonde et orientée NE-SO.

1.2.4. Hydrodynamique de l'estuaire de la Gironde

L'estuaire de la Gironde est un estuaire méso- à macrotidal (Hayes, 1975) soumis à un cycle de marée semi diurne (période de 12,5 heures) et dont le marnage à l'embouchure oscille entre 1,5 et 5,5 m. Sa surface est de 635 km² à marée haute contre 450 km² à marée basse (Salomon, 2002). Sa morphologie en entonnoir permet à un volume de marée important de pénétrer dans l'estuaire. Selon Allen et al. (1977) le volume d'eau marine introduit lors du flot est de l'ordre de 1.10^9 m^3 à 2.10^9 m^3 soit ~40-80 fois supérieur au volume d'eau apporté par les fleuves. L'élargissement naturel du lit majeur de la Gironde de 2 km au niveau du Bec d'Ambès à 11 km à l'embouchure permet l'étalement des eaux d'inondation dans les marais déprimés qui bordent l'estuaire surtout sur la rive droite (PK40 à 90). A l'inverse, en situation de flot, cette morphologie en entonnoir concentre l'énergie et produit une accélération du courant et une amplification de l'amplitude de marée vers l'amont. L'onde de marée est presque parfaitement sinusoïdale à l'embouchure de la Gironde (Sottolichio, 1999). Cependant, les courbes marégraphiques deviennent de plus en plus dissymétriques vers l'amont. Les durées de jusant sont supérieures au flot et les vitesses de courant moins élevées classant l'estuaire de la Gironde parmi les estuaires hypersynchrones selon la classification de Le Floch (1961). Les courants de marée sont plus importants dans le chenal de navigation que dans le reste de l'estuaire. Ils peuvent y atteindre 3 m/s en surface et 1,5 m/s à proximité du fond en période de vives eaux (Allen et al., 1980 ; Sottolichio, 1999).

Le flux moyen interannuel d'eau (1990-2007) apporté à l'estuaire est de ~27 km^3/an (Dabrin, 2009). Le temps de résidence de l'eau de l'estuaire varie selon les conditions hydrologiques d'une vingtaine de jours lors des crues pendant lesquelles le débit de la Gironde peut atteindre 5000 m^3/s, à 86 jours en étiage où les débits sont proches de 200 m^3/s (Castaing et Jouanneau, 1979).

La stratification de la colonne d'eau est plus importe en aval, elle augmente avec les débits fluviaux et la diminution de l'amplitude de marée à débit fluvial égal (Allen, 1972). En période d'étiage et pour une marée moyenne, les vitesses de courant dans l'estuaire aval sont dirigées vers l'aval en surface et vers l'amont près du fond. En période de crue, les vitesses sont dirigées vers l'aval en surface et à proximité du fond. (Allen, 1972). Ce type de circulation des eaux est caractéristique d'une circulation partiellement mélangée (Pritchard, 1955).

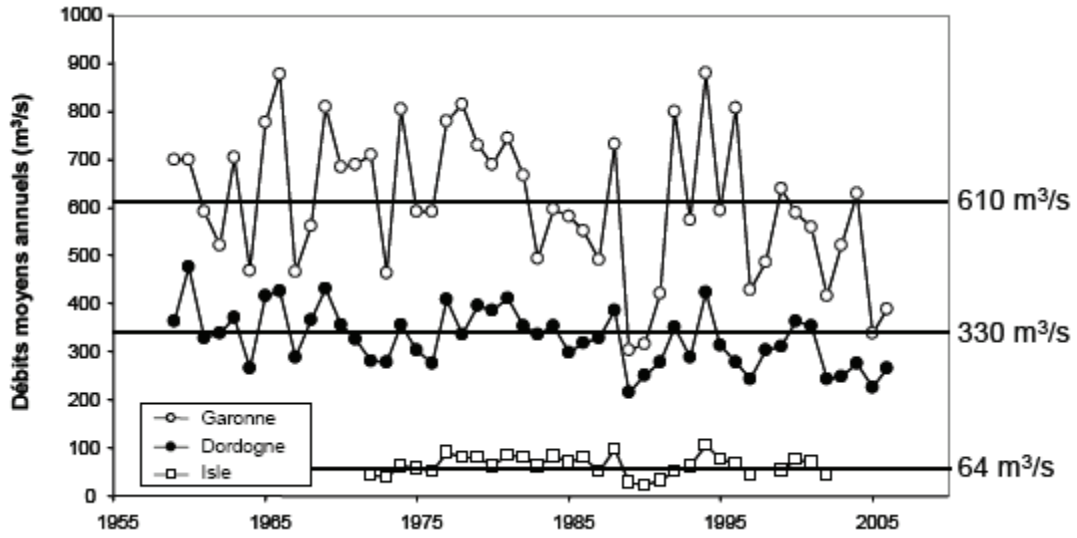

Figure 1.7. *Débits moyens annuels entre 1959 et 2006 de la Garonne et de la Dordogne et entre 1972 et 2002 pour l'Isle (Dabrin, 2009).*

Les principaux apports en eaux à l'estuaire de la Gironde proviennent de la Garonne, la Dordogne et l'Isle. Les débits moyens interannuels, calculés à partir des débits journaliers (Direction Régionale de l'Environnement (DIREN) et le Port Autonome de Bordeaux (PAB), sont de 610 m^3/s pour la Garonne, 330 m^3/s pour la Dordogne et 64 m^3/s pour l'Isle sur la période 1959-2006 (Fig. 1.7). Sur cette période, les débits varient largement entre les années humides ($850<Q<950$ m^3/s pour la Garonne) et les années très sèches ($280<Q<400$ m^3/s pour la Garonne) (Audry et al., 2004a d'après Probst et Tardy, 1985). Les débits moyens annuels entre 1959 et 2006 sont compris entre 347 m^3/s (2005) et 880 m^3/s (1994) pour la Garonne, entre 216 m^3/s (1989) et 477 m^3/s (1960) pour la Dordogne et entre 24 m^3/s (1990) et 106 m^3/s (1994) pour l'Isle.

Depuis 1983, Castaing et al. (2006) enregistrent une tendance à la diminution du débit moyen annuel de la Garonne malgré certaines années où les débits sont élevés comme en 1994. Cependant, l'évolution des débits moyen annuels de la Garonne et de la Dordogne ne montre pas de tendance à la diminution sur une période plus longue (1930-2005) mais seulement des alternances entre des périodes "sèches" et des périodes "humides" d'une durée de 10 à 35 ans (Fig. 1.8 ; Castaing et al., 2006).

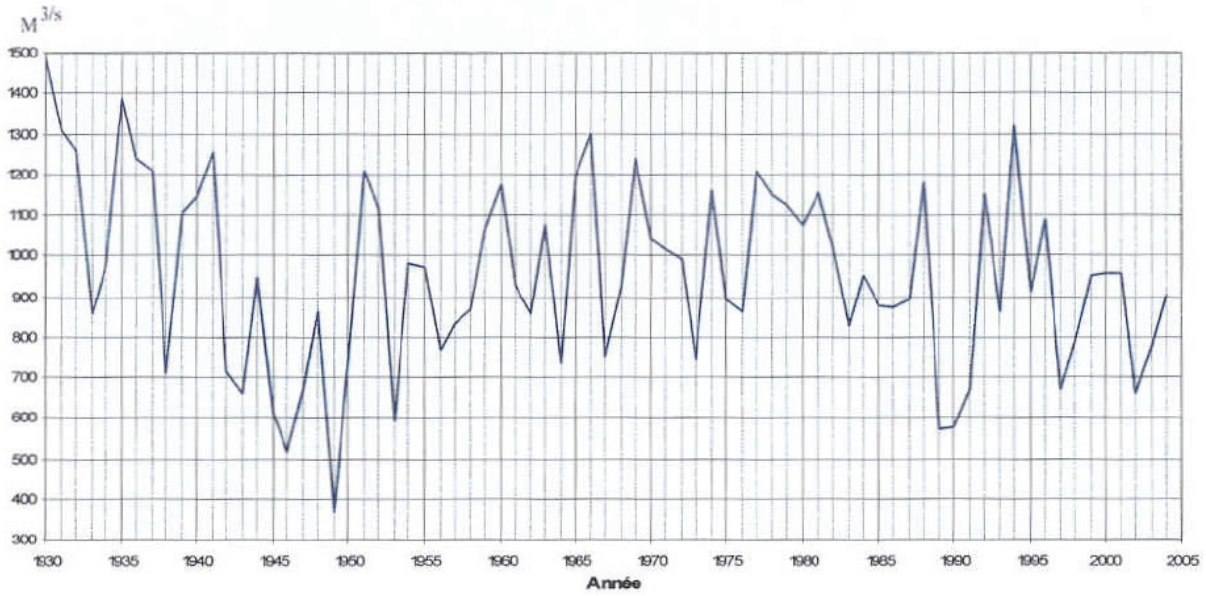

Figure 1.8. *Débit moyen annuel Garonne+Dordogne sur la période 1930-2005 (Castaing et al., 2006).*

1.2.5. Hydrologie et transport des particules dans l'estuaire de la Gironde

L'estuaire de la Gironde présente une zone de turbidité maximale (ZTM) localement nommée « Bouchon Vaseux » particulièrement importante où les concentrations en matières en suspension (MES) en surface peuvent être supérieures à 1 g/l et à plus d'une centaine de g/l au fond. Sa charge en MES en fait l'estuaire le plus turbide d'Europe de l'ouest (Abril et al., 2002).

L'origine des particules est diverse. Elles proviennent des apports atmosphériques, marins, fluviaux ou encore de remises en suspension. Les apports de particules fluviales sont particulièrement importants, notamment *via* la Garonne (Tab. 1.4) qui a contribué à 74% au

flux de matière délivré à l'estuaire sur la période 1990-1999 (Schäfer et al., 2002). L'apport annuel de MES varie entre $1{,}5.10^6$ et 3.10^6 t, essentiellement composées de silts et d'argiles (Castaing et al., 1984). Dans l'estuaire, ces particules connaissent une phase de transport lors des courants de marée et de dépôt aux étales de basse et haute mer. Cependant, les vitesses de courant plus importantes lors du flot additionnées à un étale de haute mer plus long sont deux facteurs ayant pour effet de piéger les particules en suspension en amont, au point nodal de marée (Allen, 1972). En aval, ce sont les gradients de densité et les effets de stratification induits qui limitent l'expulsion des particules en dehors de l'estuaire. La quantité de sédiments fins en suspension dans le Bouchon Vaseux représente 4 à 6 Mt (Jouanneau, 1982).

Tableau 1.4. *Apport annuel en eau et en MES à l'estuaire de la Gironde et débits moyens de la Garonne, la Dordogne et de l'Isle.*

	Garonne			Dordogne			Isle		
	Q moyen	Flux Eau	Flux MES	Q moyen	Flux Eau	Flux MES	Q moyen	Flux Eau	Flux MES
	m^3/s	km^3	Mt/an	m^3/s	km^3	Mt/an	m^3/s	km^3	Mt/an
1999	638	20,11	1,73	309	9,73	0,22	54	1,70	0,05
2000	590	19,03	1,77	366	11,5	0,56	80	2,50	0,08
2001	537	16,92	1,00	327	10,3	0,58	78	2,45	0,07
2002	407	12,83	0,87	244	7,69	0,23	43	1,37	0,03
2003	544	17,16	2,56						
2004	631	19,94	1,60						
2005	347	10,94	0,23						
2006	389	12,26	0,90						
2007	410	12,93	0,87						
2008	555	17,57	1,21						
2009	525	16,55	1,30						

Le Bouchon Vaseux effectue des migrations longitudinales et des cycles de dépôts et de remise en suspension à l'échelle des variations des conditions hydrologiques lors du cycle de marée (12h25), du cycle lunaire et du cycle saisonnier (Allen, 1972). En période d'étiage, le Bouchon Vaseux remonte en amont dans l'estuaire fluvial au niveau de Portets et Libourne (Fig. 1.6). Lors des crues exceptionnelles, il se déplace dans l'estuaire aval et peut être en grande partie expulsé sur le plateau continental (Castaing et Allen, 1981 ; Sottolichio et Castaing, 1999). Dans ce dernier cas, le panache turbide formé par le rejet des MES est soumis au vent, aux marées et à la houle (Froidefond et al., 1998). Les MES décantent principalement dans deux zones du plateau continental, la Vasière Ouest Gironde (West

Gironde Mud Patch : WGMP) et la Vasière Sud Gironde (South Gironde Mud Patch : SGMP) (Allen et Castaing, 1977 ; Parra et al., 1998 ; Weber et al., 1991). D'une surface de 530 km² pour la WGMP et de 50 km² pour la SGMP, ces deux vasières reçoivent un tiers du flux annuel en particules provenant de la Gironde (Lesueur et al., 2001). La part restante est supposée s'accumuler au nord-ouest du plateau continental (Jouanneau et al., 1999) et/ou sur les côtes charentaises de la Baie de Marennes Oléron (Lesueur et al., 2001).

La quantité de particules transportées par les fleuves vers l'estuaire est fortement dépendante du débit du fleuve et de son action mécanique d'érosion et de remise en suspension des sédiments non consolidés. L'essentiel du flux annuel de MES peut être transporté en seulement quelques jours lors de conditions hydrologiques extrêmes (Coynel et al., 2007). La crue cinquantennale en 2003 a transporté en 3 jours ~60% du flux particulaire annuel du Lot soit plus de trois fois le flux annuel de cette rivière en 2002 (Coynel et al., 2007). L'intensité d'un tel événement et le mode de gestion des crues ont permis la remobilisation des sédiments anciens (>30 ans ; Coynel et al., 2007). Le piégeage des sédiments en amont de l'estuaire lors des années sèches ou dans les zones de faible courant comme les retenus de barrage constitue un stock remobilisable lors des crues. En conséquence, **l'estimation précise des flux nécessite l'application d'une stratégie d'échantillonnage adaptée à la fois à la variabilité spatiale des bassins versants et à la variabilité temporelle des conditions hydrologiques (fréquence de prélèvement ; Coynel et al., 2004)**. Cette précision est essentielle pour renseigner les effets des crues dans la problématique globale du transport des contaminants et permettre ainsi de proposer une gestion appropriée des retenues de barrage (Coynel et al., 2007).

1.2.6. Niveaux et tendances des paramètres physicochimiques

La salinité (S) varie selon le mélange des masses d'eau océanique et fluviale en fonction du cycle de marée, du coefficient de marée et du débit fluvial. La circulation étant partiellement mélangée (Pritchard, 1955), les eaux de l'estuaire de la Gironde présentent :

- un gradient longitudinal de salinité, croissant en direction de l'Océan Atlantique et dont la position dépend principalement du débit fluvial. Les valeurs maximales sont observées en période d'étiage à marée haute.

- un gradient transversal. La force de Coriolis laisse les eaux plus salées du côté rive gauche.
- un gradient vertical qui se prononce lors des conditions hydrologiques extrêmes, en période de crue ou de mortes eaux (faible cœfficient de marée), pendant lesquelles, paradoxalement, le brassage de l'eau douce et de l'eau salée est faible.

Selon Castaing et al. (2006), l'intrusion saline en étiage semble être aujourd'hui plus importante qu'il y a 45 ans où l'isohaline S=3 se situait à Ambès soit à 20 km en aval de sa position actuelle dans les mêmes conditions. Ce résultat est confirmé par David (2006) qui a montré que la salinité a augmenté de 3 au PK50 sur la période 1978-2003.

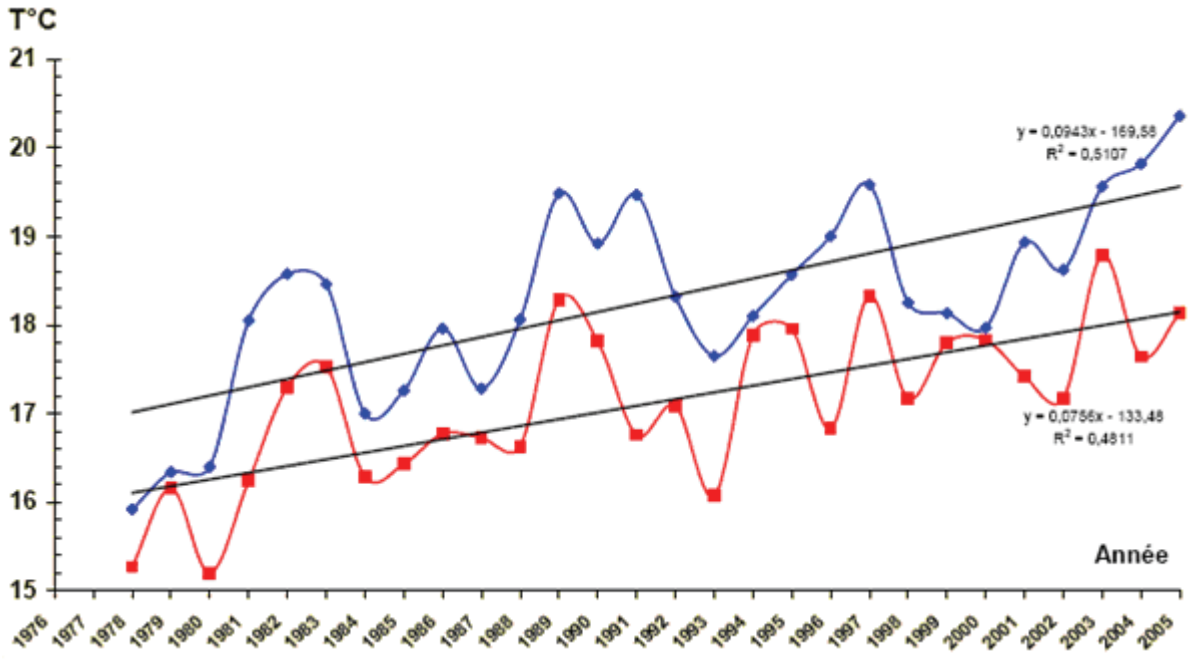

Figure 1.9. *Variation des températures ponctuelles des eaux de surface (bleu) et de l'air (rouge) de 1978 à 2005 dans l'estuaire de la Gironde au PK52 (données SOMLIT ; Etcheber et al., 2009a).*

La température des eaux de l'estuaire dépend de la saison et en moindre mesure de son hydrologie. En hiver les eaux fluviales sont plus froides que les eaux marines et inversement en été. L'amplitude thermique saisonnière est de ~20°C (5 à 25°C à Bordeaux en 2007; données MAGEST). Entre 1978 et 2003, la température de l'eau a augmenté significativement de 2°C au PK50 dans le chenal médian face au Centre Nucléaire de Production d'Electricité (CNPE), cependant sans variation significative au PK30 ni au PK70

(Fig. 1.9 ; David, 2006 ; SOMLIT). Cette augmentation est d'une part attribuée au rejet du CNPE (~1°C) et la conséquence, d'autre part, du réchauffement global de la période printanière plutôt que de l'élévation des températures estivales (David, 2006). Les variations de la température de l'eau, de même que celle de la concentration en MES et de la température de l'air, présentent une périodicité de 2-3 ans (David, 2006).

Le niveau d'oxygénation de l'eau résulte d'un grand nombre de processus microbiologiques et physico-chimiques. La minéralisation intense de la matière organique par les bactéries dans la ZTM, confirmée par la charge plus importantes des particules en matière organique de part et d'autre de la ZTM (Abril, 1999 ; Etcheber, 1986 ; Meybeck et al., 1988), provoque un déficit en oxygène (Abril et al., 1999 ; Heip et al., 2005) à l'origine du gradient vertical et horizontal d'oxydation-réduction. La plupart des espèces estuariennes de poissons de l'estuaire de l'Elbe évitent les eaux hypoxiques où les teneurs en O_2 sont inférieures à 3 mg/l (Thiel et al., 1995). L'anguille *Anguilla anguilla* s'avère cependant plus tolérante à l'hypoxie et sa population peut même présenter son maximum d'abondance dans des eaux à 3,5 mg O_2/l (Thiel et al., 1995). Cependant, leur tolérance est dépendante de la température et des stress subis. Expérimentalement, les anguilles meurent à partir de concentration en O_2 de 0,89 à 0,15 mg O_2/l à 20°C et seuls les individus sévèrement parasités meurent pour une concentration de 1,33 mg O_2/l à 20°C (Molnár, 1993). Le seuil d'oxygénation entraînant la mort des anguilles augmente pour des températures supérieures (1,44-2,56 mg O_2/l à 27-28°C ; Molnár, 1993). Cependant, la sous-oxygénation des eaux (sans être létale) peut modifier le comportement des poissons qui vont par exemple occuper de préférence les eaux de surface plus oxygénée, les soumettant indirectement à d'autres mortalités comme la prédation (Kramer, 1987).

Malgré ses très fortes turbidités locales, l'estuaire de la Gironde est relativement bien oxygéné (Abril et al., 1999) en raison de faibles teneurs en matière organique (Abril et al., 2002). Cependant, l'arrivée du Bouchon Vaseux en juin-juillet à Bordeaux et à Libourne se traduit instantanément par une chute des teneurs en O_2. Ces taux remontent lentement au mois de novembre lorsque les concentrations en MES diminuent. Les taux de saturation en O_2 les plus faibles (<50%) sont enregistrés à Bordeaux en été et à Basse Mer, alors qu'en amont, à Portets pour la Garonne et à Libourne pour la Dordogne, les taux de saturation sont les plus bas à Pleine Mer (~75-80%) en restant cependant nettement supérieur à ceux de Bordeaux (Etcheber et al., 2009b).

En 2008, les concentrations en O_2 dissous à Bordeaux oscillaient entre 11,5 mg/l en hiver et 3,5 mg/l en été (1,5 m de profondeur, données MAGEST). La même année, les concentrations à Pauillac (PK45) étaient de 12,3 mg/l en hiver et 6,3 mg/l en été (1,5 m de profondeur, données MAGEST).

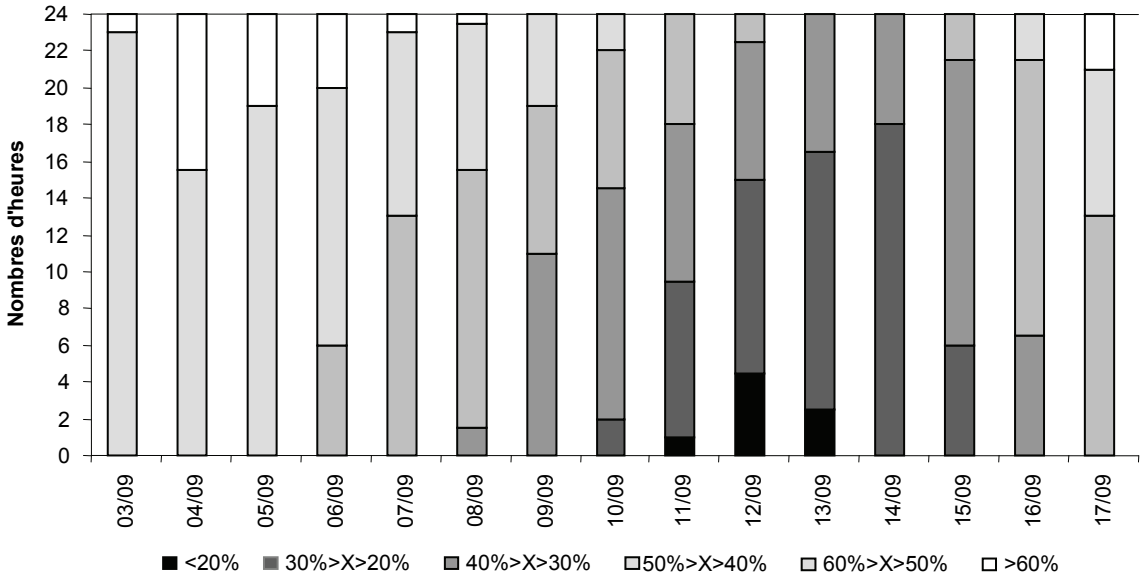

Figure 1.10. *Répartition quotidienne des saturations de l'eau en* O_2 *dissous à Bordeaux en septembre 2006 (Etcheber et al., 2009b).*

En hiver, à condition que le débit fluvial soit élevé, on ne relève pas de déficit dans l'ensemble du système. En revanche, lorsque les débits fluviaux faiblissent (étiage), les estuaires fluviaux de **la Garonne et la Dordogne sont systématiquement le siège de longues périodes d'hypoxie (plusieurs mois) pouvant être critiques pour l'écosystème**. En septembre 2006, les concentrations en O_2 à Bordeaux ont été inférieures à 3 mg/l pendant trois jours consécutifs (du 11 au 13 septembre, 1,5 m de profondeur, données MAGEST). Les saturations inférieures à 30%, enregistrées pendant un tiers à deux tiers de la journée ces jours-là, traduisent une forte consommation de O_2 dont la concentration seuil critique pour la vie aquatique a été franchie (Fig. 1.10).

1.2.7. Impact anthropique sur le système fluvio-estuarien girondin

1.2.7.a. Modification des paramètres physicochimiques

L'anthropisation du système et le changement global ont une influence sur les paramètres physicochimiques de l'estuaire, dont notamment :

- ✓ La charge en MES. Elle est dépendante de l'hydrologie. La sédimentation des particules en amont de l'estuaire lors des années sèches ou dans les zones de faible courant comme les retenues de barrage constitue un stock potentiellement remobilisable lors des prochaines crues. L'accumulation de sédiments et l'effet mécanique des crues peuvent être éventuellement limités par une gestion appropriée des débits fluviaux au niveau des barrages (Coynel et al., 2007).

- ✓ La température de l'eau de surface. Elle est augmentée d'1°C aux abords du Centre Nucléaire du Blayais dont le circuit de refroidissement est alimenté par l'eau estuarienne (David, 2006). Le CNPE est installé à Braud et Saint-Louis sur la rive droite, au PK52, depuis 1975. Il constitue le seul aménagement industriel important de la rive droite de l'estuaire marin. Le réchauffement global de la planète sur la période 1978-2003 est sans doute responsable de l'élévation de la température d'1°C supplémentaire à ce niveau de l'estuaire (David, 2006).

- ✓ L'oxygénation de l'eau. Elle peut être modifiée par les rejets des stations de traitement des eaux usées. En période estivale d'étiage, le temps de résidence des eaux dans l'estuaire est plus important, la température de l'eau est maximale et le Bouchon Vaseux est présent à Bordeaux. Une même masse d'eau peut alors osciller devant Bordeaux entre 14 et 23 jours (Dangoumau et al., 1964) et recevoir l'apport de matière organique allochtone provenant des effluents urbains. Les processus d'oxydoréduction liés à la dégradation de la matière organique sont très importants dans la ZTM girondine (Goosen et al., 1999 ; Etcheber et al., 2007). L'oxydation de matières carbonées et azotées par les bactéries présentes dans la ZTM provoque des périodes d'hypoxie saisonnières pendant lesquelles le pourcentage de saturation dans les eaux

de surface peut être inférieur à 30% comme cela a été enregistré en septembre 2006 (Fig. 1.10).

1.2.7.b. Les sources de pollutions organiques et métalliques

Parmi les **micropolluants organiques**, les concentrations en composés aromatiques polycycliques (HAP) se sont avérées modérées dans l'estuaire de la Gironde (Budzinski et al., 1997). Cependant, les polychlorobiphényles (PCB), ont récemment présenté des concentrations supérieures à la norme de consommation (8 pg OMS-TEQ/g de poids frais pour les PCB de type dioxine ; CE N°1881/2006) dans les anguilles de l'estuaire de la Gironde, en interdisant la pêche et la consommation par arrêté préfectoral (27 Avril 2010). Les rejets de résidus médicamenteux et leur impact sur les organismes aquatiques restent un enjeu de la recherche actuelle (Budzinski et Togola, 2006).

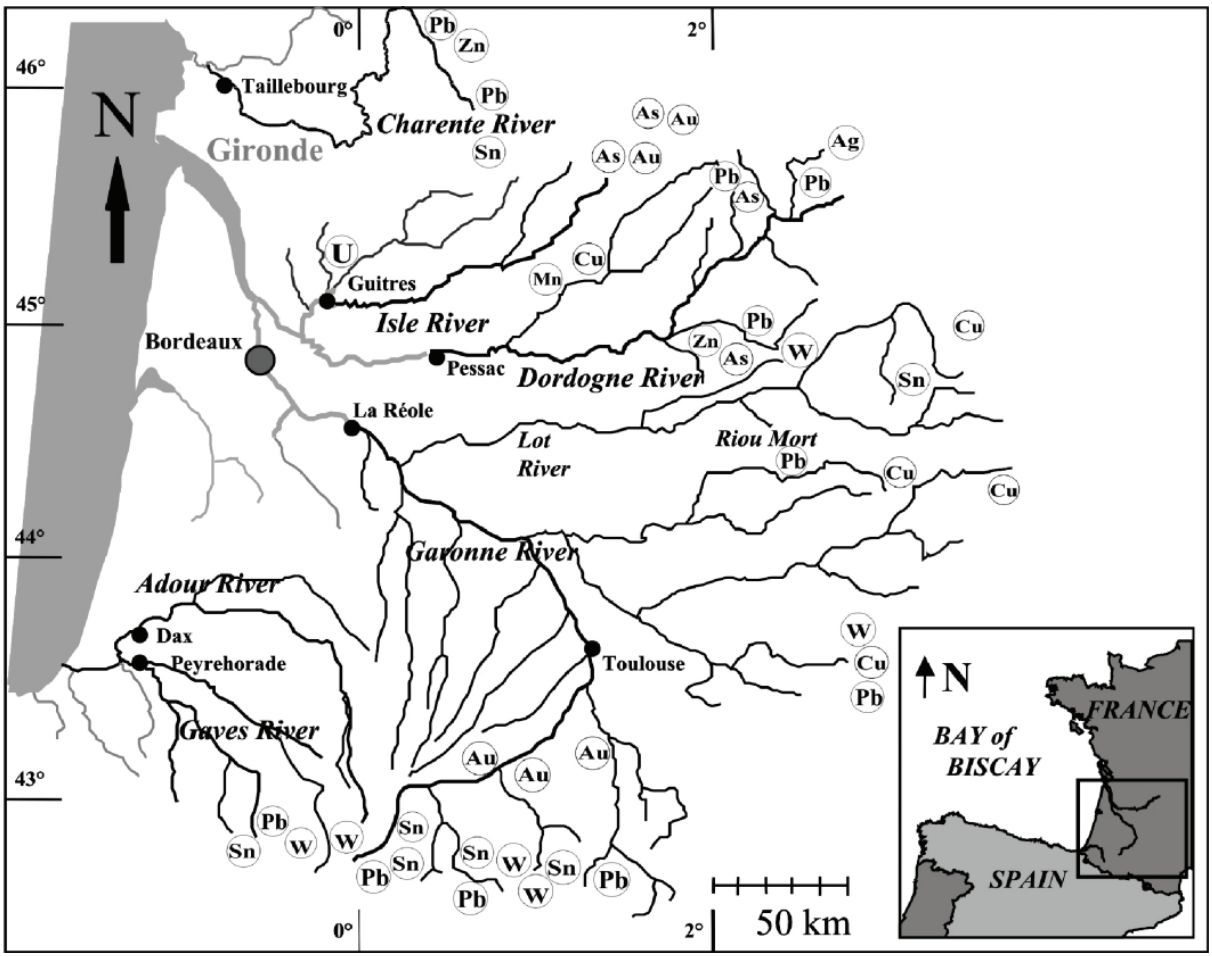

***Figure 1.11**. Localisation des dépôts miniers dans le bassin Adour-Garonne (d'après BRGM, 1978, 1980, 1983, 1985, modifiés par Schäfer et Blanc, 2002).*

L'estuaire de la Gironde est un site d'étude privilégié des apports naturels et anthropiques en **éléments traces métalliques (ETM)** ainsi que de leurs cycles biogéochimiques dans les différents gradients estuariens. Les Pyrénées et le Massif Central présentent de nombreux sites miniers et mines (e.g. Pb, Zn, Cu, Sn, W, As, Au, Sb, Mo, Ba, Fe, Mn, U, F, S ; BRGM, 1978, 1980, 1983, 1985 ; Fig. 1.11). Le Massif Central a été dans le passé la région minière la plus importante en France pour l'extraction des métaux Au, W, As, U, Pb, Zn et Ag (Bril et al., 1994 ; Bril et Floc'h, 2001). Certains sites miniers comme celui de Pontgibaud (63) ont exploité Ag (100 t Ag extrait) depuis la période Gallo-romaine jusqu'à la fin du 19ème siècle. Les sites de La Baume (12) ou Peyrebrune (81) fermés respectivement depuis 1901 et 1973, ont exploité 190 et 150 t de Ag. Des ressources en Ag ont été évaluées sur plusieurs prospects dont Le Serre (12), Les Angles sur Corrèze (19), Les Bordes (12), les Crozes (12) ou encore les Soulobres (12) (http://sigminesfrance.brgm.fr/telechargement/substances/Ag.pdf). **L'érosion de ces formations géologiques naturellement riches en métaux contribue aux concentrations en ETM des particules arrivant à l'estuaire** (Schäfer et Blanc, 2002).

La contamination importante par le Cd des huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde a été découverte en 1979 par le Réseau National d'Observation (RNO) de l'Ifremer (Boutier, 1981 ; Boutier et al., 1989 ; Claisse, 1989). Elle est liée à la présence d'une ancienne industrie d'extraction et de traitement de minerai de Zn localisée à Decazeville, dans le bassin versant du Riou-Mort dans l'Aveyron. Les activités minières et industrielles sur ce bassin versant se sont avérées être la source d'une pollution polymétallique historique (Fig. 1.12 ; Cd, Zn, Cu, Pb, Hg ; e.g. Bertin et Bourg, 1995 ; Blanc et al., 1999; Jouanneau et al., 1993 ; Roux et Simonet, 1987 ; Schäfer et al., 2006). Les travaux de remédiation qui ont fait suite à l'arrêt de l'activité de l'usine en 1986 ont permis de réduire les émissions de Cd (Audry, 2003 ; Blanc et al., 1999 ; Roux et Simonet, 1987).

Cependant, **des stocks importants de sédiments contaminés** ($9,5\pm0,9.10^6$ m^3; ~200 t de Cd; Lapaquellerie et al., 1995) se sont accumulés dans la vallée du Lot. **Lors de travaux ou de crues, ces sédiments peuvent être remobilisés et transportés dans l'estuaire** où les processus biogéochimiques qu'ils subissent rendent 90% du Cd disponibles pour la vie aquatique (Audry et al., 2004a ; Blanc et al., 1999 ; Elbaz-Poulichet et al., 1996 ; Kraepiel et al., 1997 ; Robert et al., 2004).

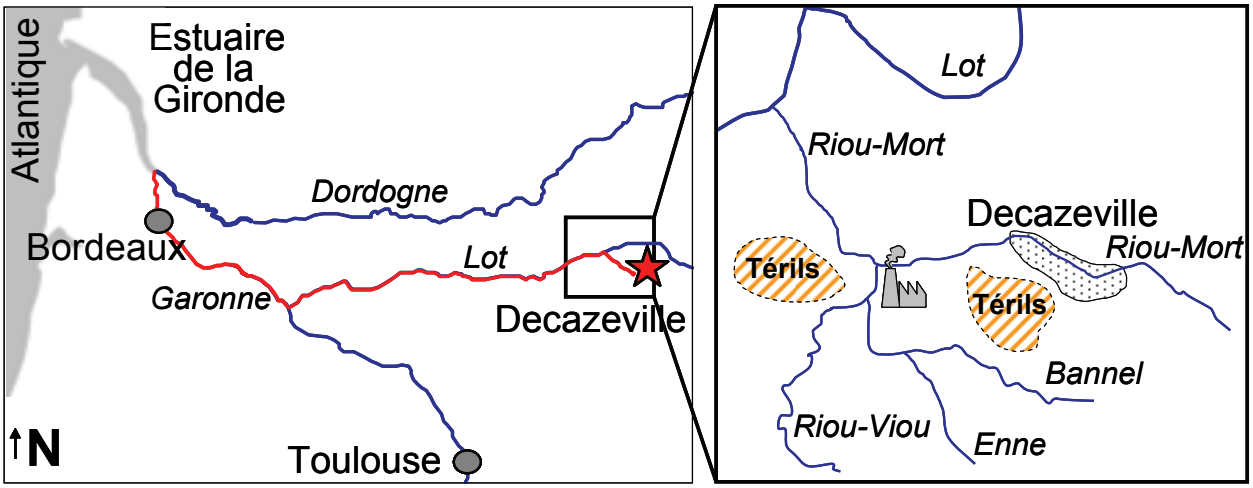

Figure 1.12. *Bassin de Decazeville, source de pollution polymétallique de l'estuaire de la Gironde.*

De plus, afin de prévenir l'envasement du chenal de navigation, et entretenir l'activité économique et industrielle des 6 pôles portuaires, l'estuaire de la Gironde est continuellement dragué. Le volume annuel moyen excavé est de 8,4 Mm^3, et les fonds sont arasés sur des hauteurs de plusieurs dizaines de cm (de 0,1 à 0,6 m ; Port Autonome de Bordeaux). Ce volume est parmi les plus importants d'Europe (Girardin et al., 2001). Les matériaux dragués sont immergés au niveau de zones définies de la Garonne, de l'estuaire et de l'embouchure en fonction des conditions hydrodynamiques pour favoriser leur dispersion (Port Autonome de Bordeaux). **Ce dragage permanent de la voie maritime mobilise des quantités importantes de sédiments contaminés et d'eaux interstitielles chargées en métaux**. Le mélange de sédiments anoxiques anciens avec des eaux et des vases plus oxygénées entraîne des oscillations redox pouvant être à l'origine de processus de mobilisation des contaminants associés (e.g., Audry et al., 2007 ; Bloom et Lasorsa, 1999 ; Kim et al., 2006 ; Robert et al., 2004).

Le Bouchon Vaseux a aussi une influence importante sur la géochimie des métaux. Lors des évènements hypoxiques saisonniers (cf 1.2.5) le gradient redox vertical dans la colonne d'eau et la présence de bactéries sulfato-réductrices induisent des processus modifiant les concentrations et la spéciation des métaux (Michel et al., 2001 ; Robert et al., 2004). Près de 25% des flux annuels de Cu dissous sont attribuables à la dégradation de la matière organique dans la ZTM (Masson, 2007).

Le passé minier et industriel n'est pas la seule source anthropique de métaux pour l'estuaire de la Gironde. L'occupation des sols du bassin versant de la Gironde est liée à l'agriculture céréalière, maraîchère et viticole qui représente en superficie la moitié du bassin de la Garonne, de la Dordogne et de l'Isle (Veyssy, 1998). Le traitement préventif des cultures aux pesticides et à la Bouillie Bordelaise (36 000 t de Cu dispersée annuellement sur la vigne ; Tessier, 2002) est une source de contaminants inorganiques (e.g. As, Cu ; Michel et al., 2000) et organiques (diuron, triazines, benzimidazoles… ; Rabiet et al., 2010) qui peuvent à terme atteindre l'environnement aquatique.

1.2.8. Les espèces clefs de l'estuaire

Dans l'estuaire de la Gironde, **la pêche, la consommation et la commercialisation de bivalves, de crevettes et d'anguilles, représentent un enjeu social et économique**. Les pressions exercées sur ces espèces ne sont pourtant pas uniquement liées à leur exploitation :

- ✓ Plus de 40% des crevettes adultes (*Palaemon sp.*) présentent des **déformations inexpliquées du squelette** (Béguer et al., 2008).
- ✓ les concentrations en Cd dans les huîtres en ont **interdit la production depuis 1996**.
- ✓ Les populations d'anguilles ont **diminuées de plus de 90% depuis les années 1970** (ICES, 2002).

1.2.8.a. La crevette blanche *Palaemon longirostris*

Plusieurs espèce de crevettes vivent dans l'estuaire de la Gironde (*Palaemon serratus*, *Palaemon elegans*, *Palaemon adpersus*, *Crangon crangon*, *Processa edulis*, *Palaemonetes varians*, *Palaemon macrodactylus*, et *Palaemon longirostris*). Parmi elles, l'espèce la plus commune est *Palaemon longirostris*, dont le nom vernaculaire est crevette blanche ou bouquet. En plus de leur intérêt social et économique avec 27 à 82 t pêchées selon les années pour un nombre de ~45 pêcheurs en 2007 (Béguer, 2009), les crevettes représentent d'un point de vue écologique un maillon important de la chaîne alimentaire étant la source principale d'alimentation de nombreuses espèces de poissons de l'estuaire (Pasquaud, 2006 ; Pasquaud et al., 2008).

La fécondité moyenne de la crevette blanche (c'est-à-dire le nombre moyen d'oeufs portés par femelle selon la taille moyenne constatée de l'année donnée) diminue significativement depuis le début des études de surveillance menées par le Cemagref pour le compte du CNPE du Blayais (Fig. 1.13). Bien qu'une diminution significative du volume des oeufs ait aussi été constatée pour les années comprises entre 1992 et 2007, la multiplicité des pontes ne permet pas de conclure sur son lien avec la diminution des abondances globales de crevettes (Béguer, 2009). La disparition de l'espèce *P. longirostris* (espèce native) est à envisager, de même que son remplacement par l'espèce exotique *P. macrodactylus*, localisée dans les zones plus salées en aval de l'estuaire (Béguer, 2009).

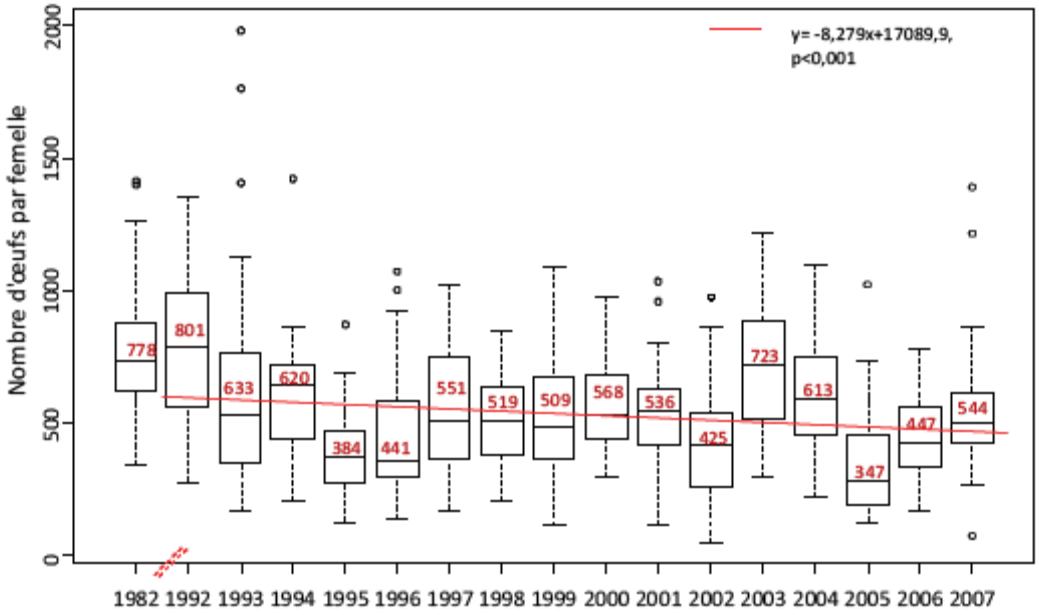

Figure 1.13. *Evolution de la fécondité moyenne de la crevette blanche. Les chiffres en rouge sont les moyennes (d'après Béguer, 2009).*

De plus, les populations de *Palaemon* l'estuaire de la Gironde présentent des déformations morphologiques importantes et avec des fréquences inquiétantes puisque plus de 40% des individus présentent de telles anomalies (Béguer et al., 2008). La cause de ces déformations est encore inconnue, toutefois, les auteurs suspectent **les métaux lourds** et/ou les PCB d'en être à l'origine (Béguer et al., 2008).

1.2.8.b. L'huître japonaise *Crassostrea gigas*

L'huître japonaise ou huître creuse du Pacifique (*Crassostrea gigas*) est un mollusque bivalve filtreur suspensivore. Originaire du nord-ouest du Pacifique, elle a été importée en France en 1966 depuis le Canada et le Japon afin de remplacer les stocks d'huîtres indigènes (huître portugaise) diminués suite à une surexploitation et aux épizooties. Sa croissance rapide et sa grande tolérance aux conditions environnementales en font la première espèce de l'aquaculture. En 2004, 105 250 t d'huîtres creuses ont été produites en France, dont plus la moitié dans la Baie de Marennes-Oléron (FAO, 2010**)**.

La saison de reproduction s'étend de début juin à mi septembre (His, 1975). La fécondité peut atteindre 50 à 100 millions d'oeufs pour les adultes (Quayle, 1969 ; Walne, 1974). La masse des gamètes croît avec l'âge en représentant 7% du poids sec (ps) de chair à 1 an, 60% à 2 ans et 80% à 3 ans sur Marennes-Oléron (Deslous-Paoli et Héral, 1988). L'huître creuse se nourrit de cellules phytoplanctoniques (5 µm à 200 µm) et de matière organique dissoute. La capacité moyenne de filtration de l'huître creuse varie entre 3,5 et 4,8 l/h/g ps (Deslous-Paoli et al., 1987). Elle est optimum pour une température de ~20°C et baisse en condition de forte turbidité (baisse de 25% pour une charge sestonique supérieure à 100 mg/l ; Deslous-Paoli et al., 1987 ; Soletchnik et al., 1991). Cette capacité de filtration est similaire à celle mesurée pour les moules bleues (*Mytilus edulis*) de 3 l/h/g à 12°C (Tremblay et al., 2004). Leur répartition mondiale, leur tolérance aux conditions environnementales très variables, leur mode de vie sédentaire et leur capacité à accumuler sont les qualités qui font des huîtres un modèle biologique pour l'étude de la qualité du milieu (Daskalakis, 1996 ; Reinfelder et al., 1997) à l'échelle mondiale (e.g. Rainbow, 1995) tels que les programmes de surveillance National Oceanic and Atmospheric Administration NOAA National Status and Trends (NS&T) aux Etats-Unis (débuté en 1986), le Réseau National d'Observation RNO/ROOCH en France (débuté en 1979) et le World Mussel Watch (regroupant toutes les données existantes).

Dans les années 1980, le Réseau National d'Observation (RNO) de l'IFREMER a mis en évidence la pollution cadmifère subie par l'estuaire de la Gironde (Boutier, 1981 ; Boutier et al., 1989 ; Claisse, 1989) par la mesure de concentrations anormalement élevées en Cd dans les huîtres des stations situées à l'embouchure de l'estuaire. Les concentrations atteignaient

alors plus de 100 µg/g (poids sec, ps) et étaient incompatibles avec la norme de consommation des bivalves marins (10 µg/g, ps jusqu'en 2001 puis 5 µg/g ps ; CE N°466/2001). En conséquence, l'estuaire de la Gironde a été classé en zone D, interdisant ainsi la production, la vente et la consommation d'huîtres. Malgré l'arrêt des émissions de Cd provenant du Lot et la mise en place de moyens de remédiation (Audry et al., 2003 ; Blanc et al., 1999 ; Roux et Simonet, 1987) qui ont permis de diminuer les apports à l'estuaire ainsi que les concentrations dans les huîtres (~25 µg/g ps en 2007 ; RNO), cette pollution a encore aujourd'hui un impact socio-économique important sur la conchyliculture régionale et peut occasionnellement en avoir sur le principale site de production européen de Marennes-Oléron (Dabrin, 2009 ; Strady, 2010).

1.2.8.c. L'anguille européenne *Anguilla anguilla*

L'anguille européenne (*Anguilla anguilla*) présente en Gironde, est un poisson migrateur considéré généralement comme catadrome, i.e. elle colonise les écosystèmes continentaux pour y effectuer sa phase de croissance et migre pour se reproduire en mer des Sargasses, bien que certains individus se sédentarisent dans l'estuaire salin sans jamais investir les eaux douces des rivières (Daverat et Tomás, 2006). Le cycle biologique de l'anguille européenne est marqué par deux migrations trans-océaniques de 6 000 km. Son aire de reproduction est localisée en Mer des Sargasses, au sud est de la Floride. La reproduction *in situ* de l'anguille européenne n'a pas encore été observée et certains aspects de la biologie de cette espèce entretiennent un intérêt scientifique fort (Bertin, 1951; Tesch, 2003).

Les larves leptocéphales issues de la reproduction suivent les courants de la dérive Atlantique Nord, le Gulf Stream, et atteignent les façades maritimes européennes, nord africaines, et méditerranéennes en 7 mois à 3 ans selon les auteurs (Lecomte-Finiger, 1983; Schmidt, 1922). La larve leptocéphale subit alors une importante métamorphose pendant laquelle la forme du poisson est entièrement réorganisée pour aboutir à la civelle transparente. Au stade civelle, l'anguille colonise les bassins versants, des milieux estuariens aux plus petits affluents, mais aussi les milieux côtiers calmes (baies, lagunes) et les marais littoraux. La phase de colonisation est suivie par une phase de croissance (stade dit anguille «jaune») au cours de laquelle l'anguille se différencie sexuellement (Bertin, 1951). Par la suite, la maturation des gonades, bloquée à un stade prépubère (Dufour, 1994 ; Durif et al., 2005),

s'accompagne d'une seconde métamorphose au cours de laquelle les anguilles dites «argentées» effectuent leur migration de reproduction transocéanique vers la mer des Sargasses (Bertin, 1951; Elie et Rochard, 1994; Lecomte-Finiger, 1990). La vitesse de croissance étant sous la dépendance des caractéristiques du milieu et de chaque individu, une très forte variabilité dans les âges des anguilles argentées dévalant vers la mer est observée : de 3 à 9 ans chez les mâles (20 à 45 cm ; 20 à 150 g) et de 5 à 18 ans chez les femelles (35 à 100 cm ; 60 à 2100 g ; Vollestad, 1992).

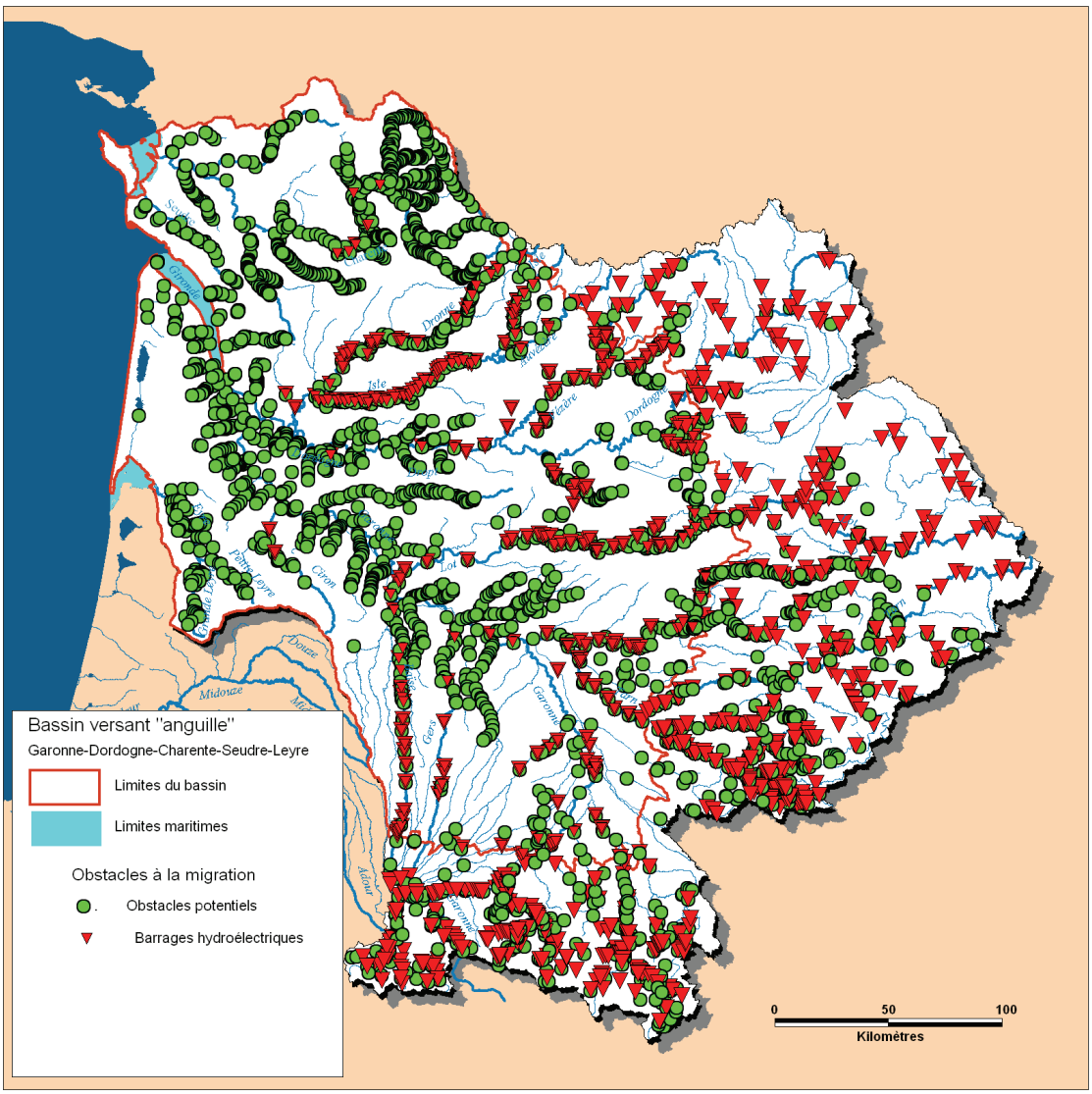

Figure 1.14. *Carte des obstacles recensés dans le bassin versant « Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre » et périmètre du bassin anguille (sources : DIREN Aquitaine, ONEMA, MI.GA.DO., Institution Charente, Parc des Landes de Gascogne, SMIDDEST, Agence de l'Eau Adour Garonne ; citées dans le Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010).*

La colonisation du bassin versant lors de la phase continentale de l'anguille est rendue difficile en raison de nombreuses barrières physiques sur la plupart des affluents de la Garonne et de la Dordogne (Fig. 1.14) et de grands ouvrages comme le barrage de Temple sur le Lot (Fig. 1.15). Le nombre d'ouvrages hydroélectriques comptabilisés sur le bassin Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre est de 1053 (source Agence de l'Eau Adour Garonne citée dans le Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010). Avec en moyenne 3 obstacles par 10 km, seuls 40% du linéaire des axes principaux Garonne Dordogne et 10% de leurs affluents sont aujourd'hui colonisables par l'anguille (MI.GA.DO., 2007a ; Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010). Le piégeage de ces poissons au niveau des obstacles les rend vulnérables à la prédation, à la compétition en lien avec la densité d'individus et à la pêche.



Figure 1.15. *Cartographie des principaux obstacles à la libre circulation sur le bassin Gironde Garonne Dordogne (source : MI.GA.DO. 2007b).*

L'anguille est exploitée à tous les stades de sa vie en estuaire. Le nombre de pêcheurs d'anguilles en Gironde est de 49 marins pêcheurs (2007), 206 pêcheurs professionnels fluviaux sur la Garonne et la Dordogne (2008) et 2500 licences attribuées aux pêcheurs amateurs aux filets et engins en 2007 (Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010). En 2007, les pêcheries professionnelles s'élevaient à 3 tonnes de civelles (de 200 à 1 000 euros/kg et ~3 000 individus/kg) et 3 tonnes d'anguilles jaunes et argentées (Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010) auxquelles s'ajoutent les captures amateurs et le braconnage, difficilement quantifiables.

Les populations européennes et nord africaines d'anguilles ont diminué de plus de 90% depuis les années 1970 (ICES, 2002). L'anguille est aujourd'hui en dehors de ses limites biologiques (ICES, 2006). Menacée, elle est en passe de devenir une espèce protégée et fait aujourd'hui l'objet d'obligation européenne. Le règlement CE N°1100/2007 du Conseil du 18 septembre 2007 a statué des mesures de reconstitution du stock d'anguilles européennes. Chaque État membre de l'Union européenne a le devoir de mettre en place un plan de gestion de l'anguille selon le découpage administratif en bassin hydrographiques conformes à la Directive Cadre sur l'Eau (DCE ; EU, 2000, transposée en droit français en 2004) et NATURA 2000 (EC, 1992). L'objectif à long terme (2018) étant de permettre la dévalaison de 40 % de la biomasse de géniteurs (anguilles argentées) qui auraient été produits dans un environnement non dégradé et sans impact d'origine anthropique. Cet objectif quantitatif est actuellement difficilement mesurable, et son estimation dans la situation pristine l'est encore plus.

Le temps de résidence important des anguilles dans l'estuaire de la Gironde (3 à 18 ans), leur nécessité d'accumuler des lipides et leur vie benthique les exposent fortement aux polluants organiques et inorganiques. Pour ces raisons, **l'anguille est considérée comme un témoin approprié de la contamination environnementale** (Belpaire et Goemans, 2007). Son utilisation pour la **biosurveillance du milieu** dans le cadre de la Directive Cadre Européenne (DCE ; CEC, 2000 ; WFD-CIS, 2003) est donc recommandée (WG Eel, 2006 ; STECF, 2006). Cette disposition à accumuler les polluants peut cependant avoir des **conséquences biologiques** d'une part, en affectant leur capacité migratoire et leur reproduction (Belpaire et Goemans, 2007 ; Pierron et al., 2007) et des **conséquences économiques** d'autre part. En effet, les arrêtés préfectoraux du 27 avril 2010 ont statué récemment l'interdiction de consommer, de pêcher et de commercialiser les anguilles provenant des eaux fluviales

(Garonne et Dordogne) et de l'estuaire de la Gironde et de en raison de concentrations en polychlorobiphényles (PCB ; utilisés comme isolants électriques, ils sont lubrifiants et ininflammables) supérieures à la norme de consommation (8 pg OMS-TEQ/g de poids frais pour les PCB de type dioxine CE N°1881/2006). De plus, l'accumulation de métaux et de contaminants organiques dans les tissus de ce poisson migrateur et l'hypoxie croissante dans la ZTM de l'estuaire affectent sa physiologie (capacité de nage, stock lipidiques, gamétogénèse), compromettant l'unique migration reproductrice vers la mer des Sargasses (Pierron et al., 2007). Les caractéristiques écologiques de l'anguille en font un accumulateur biologique potentiel d'une part, et peuvent expliquer la chute drastique de leurs populations d'autre part (Palstra et al., 2006 ; Robinet et Feunteun, 2002).

1.3. Objectifs de l'étude

La pollution de l'estuaire de la Gironde et la vulnérabilité de l'anguille au sein de cet estuaire est une problématique à la fois sociétale et scientifique dans laquelle s'inscrit le projet multipartenaires « EEL-scope » (Eco-toxicological and Economical Liability of eel exposed to Seasonal and global Change-induced O_2-depletion and Pollution in Estuaries ; 2008-2011), financé par le programme « Vulnérabilité Milieu et Climat » de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR-07-VULN-03).
Ce projet vise à évaluer le comportement géochimique des polluants majeurs, les voies de contamination, la bioaccumulation et les réponses physiologiques et génétiques de l'anguille à l'échelle de l'individu et de la population. Les résultats serviront de support pour une gestion durable de l'espèce en évaluant le potentiel socio-économique de son exploitation ainsi que les interactions entre réglementations piscicoles et protection de l'espèce.

Pour répondre aux questions posées par cette problématique, **l'estuaire de la Gironde s'est imposé comme un modèle de terrain idéal** :

- ✓ Estuaire le plus vaste d'Europe.
- ✓ La plus grande richesse spécifique des poissons migrateurs en Europe.
- ✓ Une zone de turbidité maximale importante soumise à une hypoxie saisonnière.
- ✓ Une pollution polymétallique historique d'origine minière et industrielle
- ✓ Deux grandes agglomérations (Toulouse et Bordeaux).
- ✓ Des activités de pêche professionnelle et amateur.

- ✓ Des déformations des crevettes dont la cause est indéterminée.
- ✓ Une évolution inquiétante des populations de poissons dont celle des anguilles.
- ✓ Un suivi haute fréquence des paramètres physicochimiques (réseau MAGEST)
- ✓ Un réseau d'observation des ETM (TGM GEMA)

De plus, son étude au sein de ce projet profite des acquis de plus d'une cinquantaine d'études publiées dans des revues scientifiques internationales concernant l'hydrologie, la sédimentologie, la biologie et la géochimie depuis les années 1970 (dont une liste non exhaustive est réalisée par Masson (2007)). Les progrès analytiques et le suivi des polluants émergents permettent de compléter ces connaissances sur le comportement et les cycles des polluants dans l'estuaire de la Gironde.

Récemment, Chiffoleau et al. (2005) ont constaté que les concentrations en Ag dans les moules analysées dans le cadre de la surveillance du RNO sur l'ensemble des côtes atlantiques et méditerranéennes pour les années 2003-2004 sont maximales à l'embouchure de l'estuaire de Seine (jusqu'à 4,4 µg/g, ps). La Seine drainant le bassin fortement industrialisé de Paris, ces résultats sont en accord avec la conception de Ag comme traceur des rejets urbains (e.g. Sañudo-Whilhemy et Flegal, 1992). Cependant, ces auteurs mettent en évidence que **les concentrations en Ag les plus importantes mesurées dans les huîtres proviennent des huîtres collectées à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde** (jusqu'à 65 µg/g, ps), un estuaire faiblement industrialisé qui a subit une pollution polymétallique historique. Dans ce contexte, l'absence de connaissance concernant les sources et le transfert de Ag (un des métaux les plus toxiques) dans l'estuaire de la Gironde justifie des recherches approfondies.

En conséquence, les objectifs spécifiques de mon travail au sein du projet EEL-scope ont été :

1. Etablir **le profil historique (1950-2001) des concentrations en Ag dans des sédiments de barrages** afin de déterminer le bruit de fond géochimique régional et la contribution des apports anthropiques miniers et industrielles historiques jusqu'au présent (Chap. 3).

2. Estimer la variabilité temporelle des apports provenant de l'amont du bassin versant **aux concentrations en Ag enregistrées dans les bivalves** situés à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde (1981-2007), 400 km en aval, et de **quantifier la contribution d'éventuelles sources additionnelles** en Ag (Chap. 3).

3. Déterminer les concentrations en Ag particulaire et dissous à différents sites clé du bassin versant de la Gironde, permettant, grâce à un suivi à haute fréquence adapté à la dynamique hydrologique et à la réactivité de ce milieu, de déterminer **la variabilité spatiale et temporelle (1999-2009) des concentrations et des flux particulaires et dissous en Ag** dans les principaux tributaires de la Gironde (Chap. 4).

4. D'estimer **la part anthropique et naturelle des flux de Ag**, les apports liés à l'ensemencement des nuages avec l'iodure de Ag et ceux provenant des effluents urbains des deux principales agglomérations, Bordeaux et Toulouse (Chap. 4).

5. D'estimer des **flux spécifiques en Ag d'origine anthropique** par habitant et par unité de surface, qui pourront servir de référence en prévision de la comparaison avec d'autres systèmes (Chap. 4).

6. De connaître le comportement de Ag dans un système aquatique complexe composé d'un gradient de salinité et de turbidité. Ceci nécessite de mettre en place au sein de l'UMR EPOC une méthode fiable permettant de mesurer les concentrations dissoutes et particulaires en Ag ainsi que de **quantifier les transformations de partition et de spéciation de Ag dans l'estuaire salin** (Chap. 5).

7. D'estimer **les flux nets exportés vers la zone côtière** et les systèmes adjacents et les comparer aux flux entrants dans l'estuaire afin de quantifier le rôle d'éventuelles source intra-estuariennes sur **le cycle biogéochimique de Ag dans l'estuaire de la Gironde** (Chap. 5).

8. De comparer **la bioaccumulation de Ag** chez certaines espèces clé de l'estuaire de la Gironde, d'intérêt social, économique et scientifique, et mettre en relation cette accumulation avec **la pression d'exposition et la biodisponibilité des espèces de Ag** (Chap. 6).

Chapitre 2

Matériels et méthodes

2.1. Stratégie d'échantillonnage

Dans le contexte de la chute drastique des populations d'anguilles depuis les années 1970 en Europe, renseigner une demande sociétale et scientifique sur le comportement d'un élément trace métallique (ETM) dans un estuaire nécessite une stratégie d'étude et d'échantillonnage adaptée aux questions scientifiques :

- dans le contexte de la pollution polymétallique historique de l'estuaire de la Gironde, quelle a été la contribution de l'activité minière et industrielle à Decazeville sur les rejets en Ag ?
- quelles quantités en Ag dissous et particulaire parviennent à l'estuaire de la Gironde ?
- quelles en sont les contributions de chaque bassin versant ?
- quelles autres sources en Ag peut-on identifier ?
- une fois parvenu dans l'estuaire de la Gironde, quel est le comportement de Ag dans les différents gradients estuariens ?
- quelle quantité en Ag est exportée en dehors de l'estuaire ?
- les espèces clés de l'estuaire de la Gironde sont-elles des bioaccumulateurs de Ag ?

La nécessité de la prise en compte de la dynamique spatiale de l'estuaire de la Gironde apparaît à la lecture de ce questionnement, de même que celle d'intégrer la dimension historique de son passé minier et industriel et de la pollution polymétallique qui lui est liée. Nos observations aujourd'hui sur les organismes aquatiques, les particules sédimentaires ou en suspension et la colonne d'eau, sont aussi la conséquence d'évènements passés.

L'accès à l'historique des émissions en Ag vers l'estuaire ainsi que l'historique des pressions subies par le compartiment biologique dans le passé ont été déterminés à partir des profils sédimentaires des concentrations en Ag dans des zones clés d'accumulation (Fig. 2.1, A) et comparés aux concentrations en Ag mesurées dans les huîtres provenant de l'embouchure de la Gironde entre 1982 et 2007 (RNO ; Fig. 2.1, B). Afin d'établir un lien avec la pollution industrielle, principalement cadmifère, les concentrations en Ag ont été comparées aux concentrations en Cd. En complément, un suivi à haute résolution, mis en place dès 1990 au niveau Lot-Garonne et entre 2000 et 2002 pour la Dordogne et l'Isle, a permis de caractériser les principaux bassins versants et d'accéder à la variabilité spatiale et temporelle des apports en Ag dissous et particulaire à l'estuaire pour la période 1999-2009 (Fig. 2.1). Enfin, des campagnes océanographiques (navire « Côtes de la Manche » de l'Institut National des Sciences de l'Univers, INSU) ont permis de déterminer la

réactivité de Ag une fois parvenu sous forme dissoute ou particulaire dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde (Fig. 2.1, C).

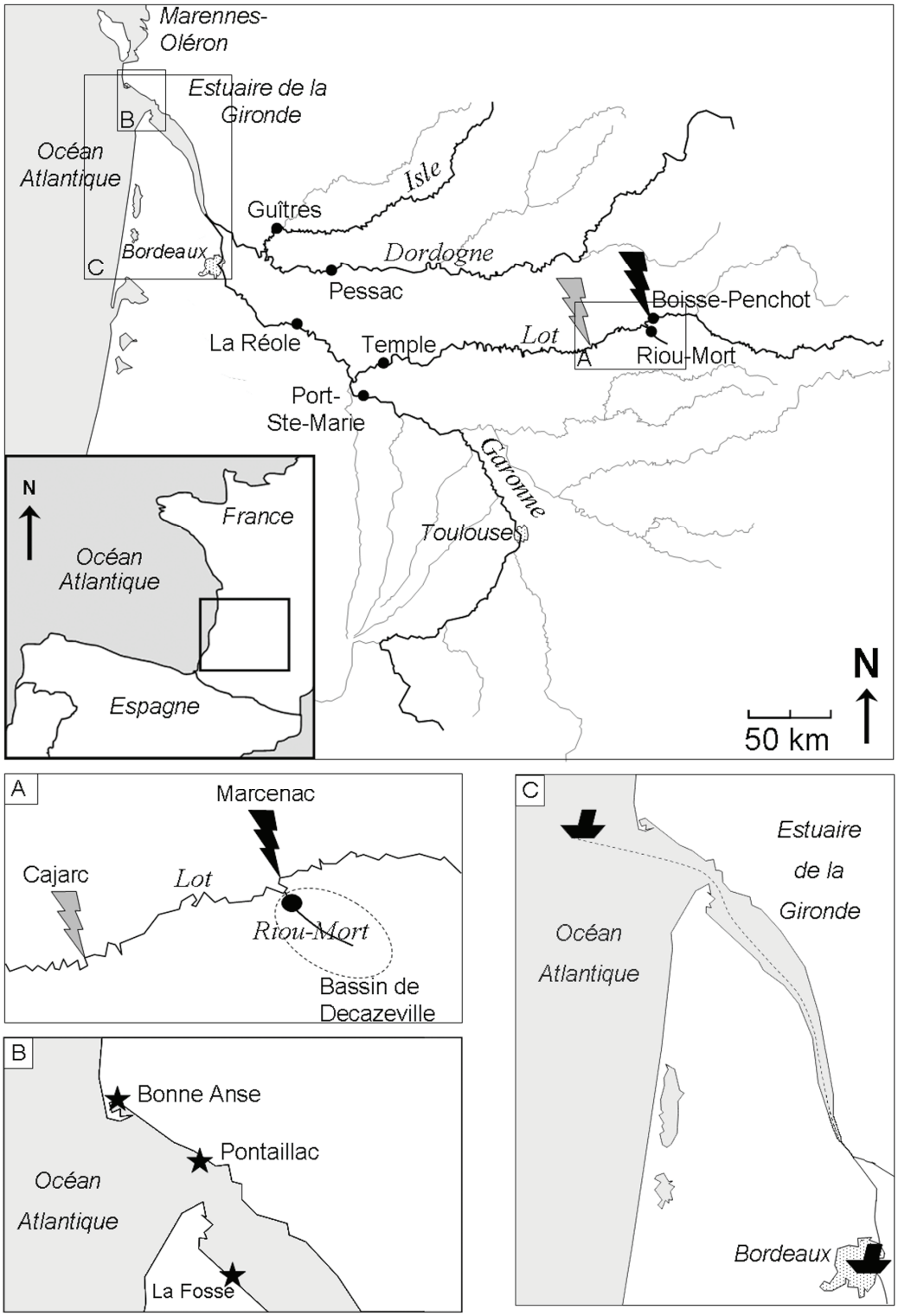

Figure 2.1. *Sites d'échantillonnage des apports fluviaux (●), des carottages sédimentaires (;A), des huîtres par le RNO (★ ; B), et campagnes océanographiques dans les gradients géochimiques estuariens (C).*

2.1.1. Sites d'échantillonnage

2.1.1.a. Profils sédimentaires

Les retenus de barrages sont des zones d'accumulation sédimentaire où les taux de sédimentation peuvent être supérieurs à 2 cm/a (Arnason et Fletcher, 2003 ; Audry et al., 2004c ; Müller et al., 2000). En raison de ces taux élevés, ces zones sont considérées comme faiblement affectées par les processus de diagenèse (Callender, 2000). Elles permettent ainsi d'accéder à l'enregistrement historique des signaux géochimiques (concentrations métalliques, phases porteuses, fractionnement isotopique, etc.) dans les profils sédimentaires (Audry et al., 2004c ; Castelle et al., 2007 ; Sivry et al., 2008 ; Sonke et al., 2010 ; Valette-Silver, 1993).

Afin de caractériser l'apport historique de la pollution industrielle et minière de Decazeville, des carottes ont été prélevées en Juin 2001 dans deux lacs artificiels de barrages hydro-électriques du Lot, aux sites de Marcenac et de Cajarc (Fig. 2.1, A). Ces deux sites sont localisés en amont et en aval de la confluence entre le Lot et le Riou-Mort, drainant le site d'origine de la pollution polymétallique (le bassin de Decazeville). La carotte du site de Marcenac donne accès au bruit de fond géochimique du bassin versant amont du Lot (Audry et al., 2004c ; Castelle et al., 2007). Les sédiments prélevés dans la carotte du site de Cajarc, 25 km en aval, ont enregistré la pollution polymétallique (e.g. Cd, Zn, Pb, Hg) liée, d'après la datation au ^{137}Cs, aux anciennes activités industrielles et minières sur le bassin de Decazeville (Audry et al., 2004c ; Castelle et al., 2007).

2.1.1.b. Le réseau d'observation de l'estuaire fluvial

Un réseau d'observation des rivières Lot et Garonne (depuis 1990) puis Dordogne (depuis 1999) a été mis en place afin d'estimer la contribution de chaque tributaire aux apports en ETM dissous et particulaires à l'estuaire de la Gironde. Les sites ont été choisis de manière à intégrer le maximum d'information provenant du bassin versant tout en étant en amont de la limite de marée dynamique (e.g. Audry et al., 2004a, 2004b ; Masson et al., 2007 ; Schäfer et al., 2002 ; Fig. 2.1).

Les prélèvements de MES sont réalisés automatiquement aux sites Guîtres, Temple et Riou-Mort avec une résolution de 90-180 min (Bühler PB-MOS ; SIGMA 900P). Les 8-16 prélèvements quotidiens sont collectés dans un même flacon d'1 l. A Pessac, La Réole, Port-Sainte-Marie et Boisse-Penchot l'échantillonnage est manuel et réalisé quotidiennement. Dans les deux situations, les prélèvements sont réalisés à ~0,2-0,5 m de profondeur et à ~1-2 m de la berge selon le débit de

la rivière (e.g. Audry et al., 2004a, 2004b). Au laboratoire, les concentrations en MES sont déterminées par la filtration d'un volume précis d'eau de rivière à travers un filtre séché et pré-pesé (Whatman GF/F, 0,7 µm). L'ensemble des filtres est séché à l'étuve (50°C) pendant 48h puis repesé.

Les prélèvements des échantillons d'eau et particules destinés à la mesure des concentrations métalliques dissoutes et particulaires sont réalisés tous les 24 jours. Leur traitement est décrit plus loin (sections 2.1.2 à 2.1.4). Après analyse, les résultats complètent une banque de données et les échantillons sont conservés dans une banque d'échantillons à l'abri de la lumière. Depuis 2004, les analyses des concentrations en Ag dissous (Ag_D) et particulaires (Ag_P) sont réalisées en routine dans les particules et en eau douce. Au cours de ce travail de thèse, l'exploitation de la banque de données depuis 2004 et de la banque d'échantillons de particules sur la période 1999-2004 avait pour objectif de déterminer la variabilité spatiale et temporelle des concentrations dissoutes et particulaires en Ag et de déterminer la contribution de chaque bassin versant aux apports en Ag.

2.1.1.c. Campagnes océanographiques

La distribution de Ag dissous et particulaire dans le gradient de salinité de l'Estuaire de la Gironde a été déterminée à l'aide des prélèvements réalisés à bord du navire de recherche «Côtes de la Manche » de l'INSU (Fig. 2.2). Ces campagnes ont été effectuées en Avril 2008, Mars 2009 et Juin 2009 lors de conditions hydrologiques contrastées (Tab. 2.1).



Figure 2.2. *Navire océanographique « Côtes de la Manche » de l'INSU.*

L'eau et les particules de sub-surface (~1 m) ont été prélevées toutes les 1 à 2 unités de salinité entre le pôle fluvial (Bordeaux, S=0) et le pôle marin (33<S<35 ; Tab. 2.1).

Tableau 2.1. *Missions réalisées à bord du navire « Côtes de la Manche » de l'INSU. Sal. : Salinité ; MES : Matières En Suspension ; O_2 : oxygène dissous ; Temp. : Température de l'eau de surface ; COD : Carbone Organique Dissous ; COP : Carbone Organique Particulaire ; Chla : Chlorophylle a.*

Station	Latitude	Longitude	Sal.	MES	O_2		pH	Temp.	COD	COP	Chla
				mg/l	%	mg/l		°C	mg/l	%	µg/l
GIMERCAD 6 (Avril 2008; Débit=2320 m^3/s)											
GMC 601	44°51.456	00°33,095	0	41	116	12,8	8,2	11,0	2,3		
GMC 602	45°18,634	00°46,455	1,1	550	103	12,0	9,0	10,9	1,5	1,8	
GMC 603	45°24,122	00°50,681	2,5	2660	110	11,9	9,0	11,2	3,1	1,4	
GMC 604	45°26,627	00°53,487	4,0	1040	112	11,9			2,2	1,6	
GMC 605	45°28,492	00°55,969	7,0	668	114	11,9	9,4	11,2	1,4	1,7	
GMC 609	45°28,539	00°55,826	8,5	145	116	12,0		11,2	1,5	1,5	
GMC 608	45°30,627	00°58,330	10,8	166	119	12,0		11,3	1,9	1,4	
GMC 607	45°32,333	01°00,685	13,0	122	108	10,9		11,3	1,4	1,5	
GMC 606	45°33,818	01°03,307	14,7	177	120	12,3	7,5	11,3	1,5	1,5	
GMC 610	45°32,861	01°01,640	16,2	43	121	12,0	8,3	11,3	1,5	1,4	
GMC 611	45°34,134	01°02,103	20,2	47	122	11,8	8,4	11,3	1,2	1,5	
GMC 612	45°38,318	01°07,576	22,3	30	123	11,6	8,2	11,2	0,8	1,4	
GMC 613	45°39,307	01°10,565	27,1	72	124	11,4	8,0	11,2	1,6	1,4	
GMC 615	45°37,854	01°25,740	29,7	12	124	11,1	8,1	11,6	1,6	1,3	
GMC 614	45°39,560	01°12,737	29,8	32	123	11,1	7,8	11,3	1,8	1,2	
METOGIR 2 - VOT'TRAM 5 - COUBRE (Mars 2009; Débit=747 m^3/s)											
MTG2 st11	44°51,455	00°33,376	0	41	108	10,9	8,7	14,6			
MTG2 st10	44°59.754	00°33.628	0,1	256	98	10,1	8,0	13,6			0,4
MTG2 st9	45°01,715	00°36.163	0,7	250	100	10,3	8,0	12,8			0,2
MTG2 st8	45°10,983	00°43,498	3,4	198	92	10,1	8,0				0,5
MTG2 st7	45°16,694	00°45,439	6,1	102	100	10,4	8,0	12,3			1,1
MTG2 st6	45°17,891	00°46,018	8,4	63	100	10,4	8,0	11,9			1,1
MTG2 st2	45°31,110	00°58,071	11,0	34	94	10,4	8,0	10,8			0,5
MTG2 st5	45°28,020	00°55,054	11,2	38	107	1,0	8,0	11,3			0,6
MTG2 st3	45°31,645	00°59,807	13,7	30	99	11,2	7,9	11,3			0,6
MTG2 st4	45°32,880	01°01,420	15,6	27	100	11,0	7,9	11,3			0,5
MTG2 st1	45°31,011	00°58,071	17,3	32	99	10,2	7,8	14,0			0,7
Cbre st10	45°34,259	01°01,545	18,2	71	99	10,1	7,9	15,1		1,4	0,8
Cbre st9	45°37,708	01°06,337	19,8	52	101	9,9	7,9	15,6		1,5	0,8
Cbre st8	45°39,130	01°09,471	23,0	45	102	9,9	7,9	15,6		1,6	0,9
Cbre st7	45°39,750	01°13,023	25,4	31	98	10,4	8,0	14,6		1,5	1,2
Cbre st6	45°39,403	01°14,547	26,8	40	99	10,4	7,9	14,8		1,6	1,4
Cbre st5	45°38,906	01°15,965	27,7	35	98	10,2	7,9	14,4		1,6	1,4
Cbre st4	45°38,098	01°18,568	29,0	31	101	10,2	7,9	15,0		1,7	1,2
Cbre st2	45°37,887	01°25,643	29,9	21	101	10,5	7,9	14,1		1,9	0,8
Cbre st3	45°38,167	01°22,240	30,7	28	102	10,5	7,9	14,0		1,7	1,4
Cbre st1	45°37,833	01°29,205	32,3	12	99	10,3	8,1	13,1		6,3	2,3
VOT'TRAM 6 - COUBRE (Juin 2009; Débit=729 m^3/s)											
Cbre st10	45°34,177	01°01,734	24,6	15	88	7,8	7,8	18,4		2,4	1,7
Cbre st9	45°37,105	01°06,789	24,8	11	91	8,1	7,9	19,1		3,2	1,9
Cbre st8	45°39,150	01°09,500	26,7	9	87	8,0	8,0	17,8			2,0
Cbre st7	45°39,800	01°13,050	27,9	5	88	8,3	8,1	17,6		4,2	0,5
Cbre st5	45°38,977	01°15,951	28,0	10	92	8,5	8,1	16,6		3,1	1,4
Cbre st6	45°39,435	01°14,354	29,4	9	88	8,4	8,1	16,6		3,6	1,9
Cbre st3	45°38,225	01°21,952	29,5	7	89	8,4	7,9	16,4		6,8	1,7
Cbre st4	45°38,219	01°18,120	30,1	7	83	8,2	8,0	16,2		3,5	2,0
Cbre st1	45°38,130	01°28,942	31,1	9	98	8,7	8,0	17,4		8,4	1,9
Cbre st2	45°37,902	01°25,267	31,1	7	91	8,6	7,9	16,6		5,5	1,5

2.1.1.d. Le réseau d'observation biologique

Le Réseau National d'Observation (RNO) de l'IFREMER a constitué une banque d'échantillons biologiques à partir des échantillonnages de moules (*Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*) et d'huîtres (*Crassostrea gigas*) prélevées quatre fois par an jusqu'à 2003, puis deux fois par an jusqu'à 2007, sur 80 sites des côtes françaises entre 1979 et 2007 (Fig. 2.3).

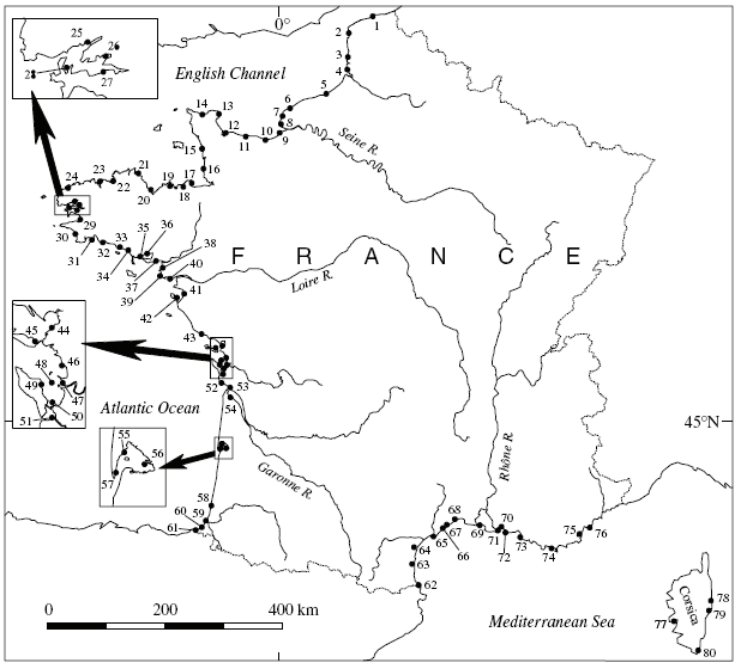

Figure 2.3. *Localisation des sites d'échantillonnage du RNO (source IFREMER).*

L'observation à long terme a permis d'établir la distribution spatiale des contaminants (Chiffoleau et Bonneau, 1994), d'identifier des tendances de contamination/décontamination (Chiffoleau et al., 2001) et de détecter des anomalies accidentelles (Chiffoleau et al., 2005). Les concentrations en Ag des huîtres des sites de l'estuaire de la Gironde ont été mesurées sur la période 1981-2007 pour les sites de La Fosse (salinité 15-20), Pontaillac (salinité 20-25) et Bonne Anse (salinité 25-30) (Fig. 2.1B).

2.1.2. Précautions spécifiques pour le prélèvement et le conditionnement des échantillons

Afin d'éviter toute contamination ou perte, d'importantes précautions doivent être prises quant à l'échantillonnage, le traitement et l'analyse des métaux traces. La vaisselle en polypropylène (PP)

ou en téflon utilisée est préalablement baignée pendant 72h dans un bain d'acide nitrique (10% v/v HNO_3, Baker Analysed, 16M). Puis elle est rincée soigneusement trois fois à l'eau déionisée et trois fois à l'eau ultra-pure (Milli-Q, 18,2 MΩ, Millipore). Une fois séchée sous hotte à flux laminaire, la vaisselle est conditionnée dans des poches doublées en polyéthylène (PE) fermées hermétiquement.

2.1.3. Prélèvements d'eau

La colonne d'eau étant homogène dans l'estuaire fluvial, l'eau est prélevée à 1 m de la berge et à 0,3-0,5 m de profondeur à l'aide d'une bouteille (1 l) préalablement rincée à l'eau du site et d'une perche. Dans le cas des campagnes océanographiques, l'eau est prélevée à l'aide de bouteilles Niskin à une profondeur d'un mètre afin d'éviter une potentielle pollution (e.g. hydrocarbures) de la couche de surface (Fig. 2.4). Après prélèvement, l'échantillon est immédiatement filtré sur filtre seringue (22 mm Ø) en acétate de cellulose (0,2 µm, Fig. 2.4). Le filtrat est récupéré dans des flacons en polypropylène de 30ml décontaminés à l'acide et acidifié à l'acide nitrique (0,5% HNO_3, Suprapur*Plus* ou PlasmaPur ULTREX) en eau douce et à l'acide chlorhydrique (0,5% HCl, J.T. Baker INSTRA Analysed) en eau salée. L'échantillon traité est conservé à l'abri de la lumière et à 4°C jusqu'à l'analyse.



Figure 2.4. *Prélèvement et traitement des échantillons d'eau.*

L'acidification des échantillons prévient de l'adsorption des métaux sur les parois du flaconnage ainsi que du développement bactérien. Dans le cas du traitement des échantillons d'eau filtrée aux rayons UltraViolets (photolyse UV), l'exposition aux UV se fait avant acidification (cf 2.2.2.a).

2.1.4. Prélèvements de particules en suspension

Les prélèvements de matières en suspension (MES), lors du suivi du niveau de concentration en ETM dans le réseau fluvial du bassin Adour-Garonne, sont effectués dans des containers en polypropylène de 40 l. L'eau prélevée est immédiatement centrifugée au laboratoire (Westfalia Separator, 12 000 g, Fig. 2.5). Lors des campagnes océanographiques, l'eau est pompée par une pompe péristaltique à un débit de 50 l/min vers un container (tous deux rincés préalablement à l'eau du site) et centrifugée. Cette méthode permet la récupération de plus de 96% des particules présentes dans l'eau (Schäfer et Blanc, 2002). Une fois récupérés, les échantillons particulaires sont séchés à l'étuve (50°C), broyés et homogénéisés à l'aide d'un mortier en agate. Les particules sont conservées à l'abri de la lumière dans des poches (en polyéthylène, PE) jusqu'à analyse.



Figure 2.5. *Prélèvement des matières en suspension : pompage (bouée orange), containers et centrifugeuses.*

2.1.5. Prélèvements des sédiments

Les colonnes sédimentaires échantillonnées en 2001 dans les retenues de barrages hydroélectriques de Marcenac et Cajarc ont été découpées en tranches horizontales à l'aide d'un piston et de spatules en plastique pour éviter toute contamination de l'échantillon au cours du prélèvement (Audry, 2003). La résolution verticale était de 0,5 cm dans les premiers centimètres, puis de 1 cm, 2,5 cm et 5 cm successivement vers le fond de la carotte. Pour chaque tranche, la partie périphérique (~1 cm) directement en contact avec la gaine plastique a été retirée afin d'éviter toute contamination éventuelle. Chaque échantillon a été séché à l'étuve (50°C), broyé et homogénéisé à l'aide d'un mortier en agate et conservé à l'abri de la lumière dans des poches (PE) jusqu'à l'analyse.

2.2. Méthodes analytiques

2.2.1. Appareillage

Les analyses des échantillons d'eau, des attaques totales et sélectives des particules ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre de masses à plasma couplé induit (ICP-MS X2 et X7, Thermo Scientific). La spectrométrie de masses est une technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des ions des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction du rapport masse/charge (m/z). Cet appareil permet une mesure quasi-simultanée des différents isotopes d'un ou plusieurs éléments contenus dans une solution. Le principe d'analyse par ICP-MS quadripolaire comporte quatre étapes : la nébulisation, l'ionisation, la séparation en masse/charge et la détection. Lors de la première étape, l'échantillon à analyser est conduit dans une chambre de vaporisation (nébuliseur) par une pompe péristaltique où il est transformé en un aérosol de très fines gouttelettes à l'aide de Ar gazeux. Dans une seconde étape, l'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche en quartz qui abrite le plasma de Ar (Ar ionisé ; 6000 à 8000 K) afin de vaporiser, atomiser et ioniser complètement la plupart des éléments introduits. Une partie des ions formés (moins de 10%) passe dans une chambre de vide différentiel (10^{-3} Pa) par l'orifice d'une interface en nickel ou en platine (1 mm, cône «sampler») pour ensuite passer dans la zone de vide secondaire (jusqu'à 10^{-6} Pa) par un second orifice (cône «skimmer»). Dans cette zone de vide secondaire, un ensemble de lentilles électrostatiques extrait les ions chargés positivement et les transporte vers le spectromètre de masse quadripôlaire. Ce filtre de masse transmet seulement au détecteur les ions présentant un rapport m/z particulier, déterminé en fonction du champ magnétique appliqué au quadripôle (3ème étape). Enfin, lors de la quatrième étape, le détecteur traduit en nombre d'impulsions le signal des ions lui parvenant. Une calibration externe à l'aide d'une solution standard multi-élémentaire permet de transformer le nombre de coups enregistrés en concentration. Afin de corriger une éventuelle dérive de sensibilité de l'appareil au cours de l'analyse, un échantillon de la gamme standard ainsi qu'un blanc (HNO_3 ultrex, 1% m/v) sont analysés tous les 5 échantillons.

2.2.2. Mesures des concentrations en Ag dissous

Dans les environnements naturels, les concentrations en Ag dissous peuvent être de l'ordre de 10^{-1} à quelques ng/l. La mesure de telles concentrations nécessite de prendre des précautions lors des prélèvements, du traitement et de l'analyse des échantillons. En eau douce, les limites de détection (LD) des ICP-MS permettent une mesure directe des concentrations en Ag dissous (LD : 0,5 ng/l ; cf 2.2.4.a), au contraire de l'analyse des matrices salées qui nécessite l'emploi d'une technique de séparation, multipliant les risques d'erreurs de mesures liées aux pertes (rendement d'extraction) ou aux gains en Ag (e.g. contamination par les réactifs).

Une méthode utilisée pour permettre la rétention de Ag tout en éliminant la matrice salée est l'extraction liquide-liquide décrite par Bruland et al. (1979). Cette technique a l'inconvénient :

-d'être consommatrice de grands volumes d'échantillons filtrés (100-250 ml), ce qui est souvent difficile à obtenir en raison des fortes turbidités de l'estuaire de la Gironde.

- d'être consommatrice de temps, puisqu'elle nécessite des extractions multiples dans des solvants organiques, une évaporation et une reprise dans l'acide.

- de multiplier les risques de contamination (vaisselle et réactifs).

- d'utiliser du chloroforme, un gaz à effet de serre comportant des risques pour l'opérateur.

Pour ces différentes raisons, **la technique d'extraction solide-liquide** (Barriada et al., 2003, 2007 ; Ndung'u et al., 2006 ; Yang et Sturgeon, 2002)**, utilisant une résine d'échange anionique éluée en ligne avec étalonnage interne par dilution isotopique, a été mise en place à l'UMR EPOC au cours de ce travail de thèse** et sera décrite par la suite (cf. 2.2.2).

2.2.2.a. Photolyse UV

Les échantillons d'eau filtrée (<0,2 µm) sont exposés au rayonnement UltraViolet (UV) avant acidification. Le rayonnement UV détruit le lien entre les métaux et les molécules organiques dissoutes et les formes organo-métalliques et permet d'éviter ainsi l'addition de réactifs oxydant potentiellement contaminants (e.g. HNO_3, H_2O_2, etc.).

La photolyse est réalisée dans une spire en quartz (5 m de longueur, 2 mm de diamètre interne et dont le volume mort est de 15 ml) qui est enroulée autour d'une lampe UV (254 nm ; 40 W). Afin d'éviter toute diffusion du rayonnement dangereux pour les opérateurs, la lampe et la spire sont isolées dans un espace clos dont l'atmosphère est extrait en continu tout le temps du fonctionnement de la lampe afin de refroidir la lampe et d'éliminer l'ozone produit par les UV (Fig. 2.6). La vitesse de passage des échantillons est commandée par une pompe péristaltique. La vitesse optimum de 0,5 ml/min a été déterminée par le maximum de concentration en Ag mesuré après traitement UV

de matériels certifiés. Les concentrations en Ag obtenues ont été comparées avec les résultats obtenus par Ndung'u et al. (2006) pour du matériel de référence (Tab. 2.5).

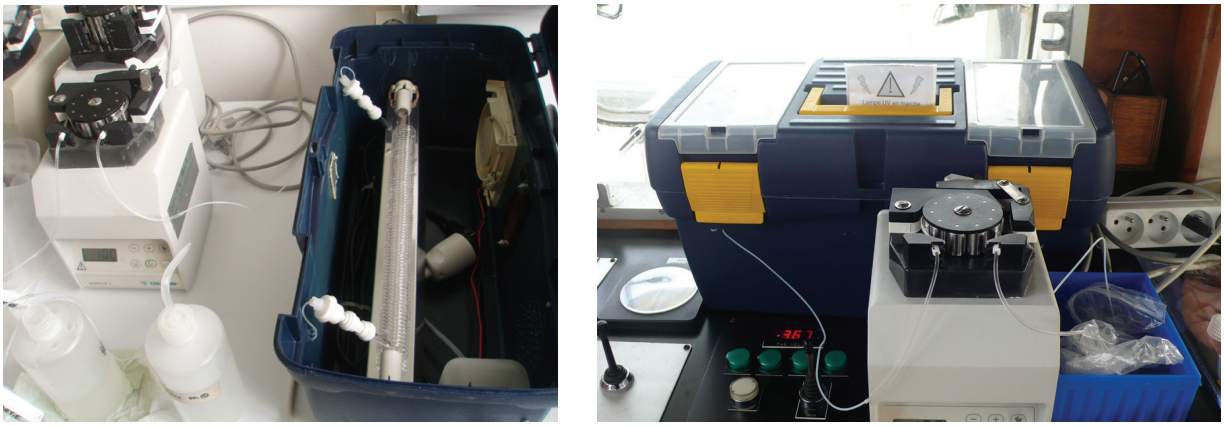

Figure 2.6. *Système de Photolyse UV.*

2.2.2.b. Dilution isotopique

Le principe de la dilution isotopique est basé sur la modification du rapport isotopique naturel de l'élément dont on veut connaître la concentration par l'ajout d'une quantité connue d'un de ses isotopes stables. Le changement de rapport isotopique induit par le dopage d'une quantité précise mono-isotopique est inversement proportionnel à la concentration initiale de l'élément.

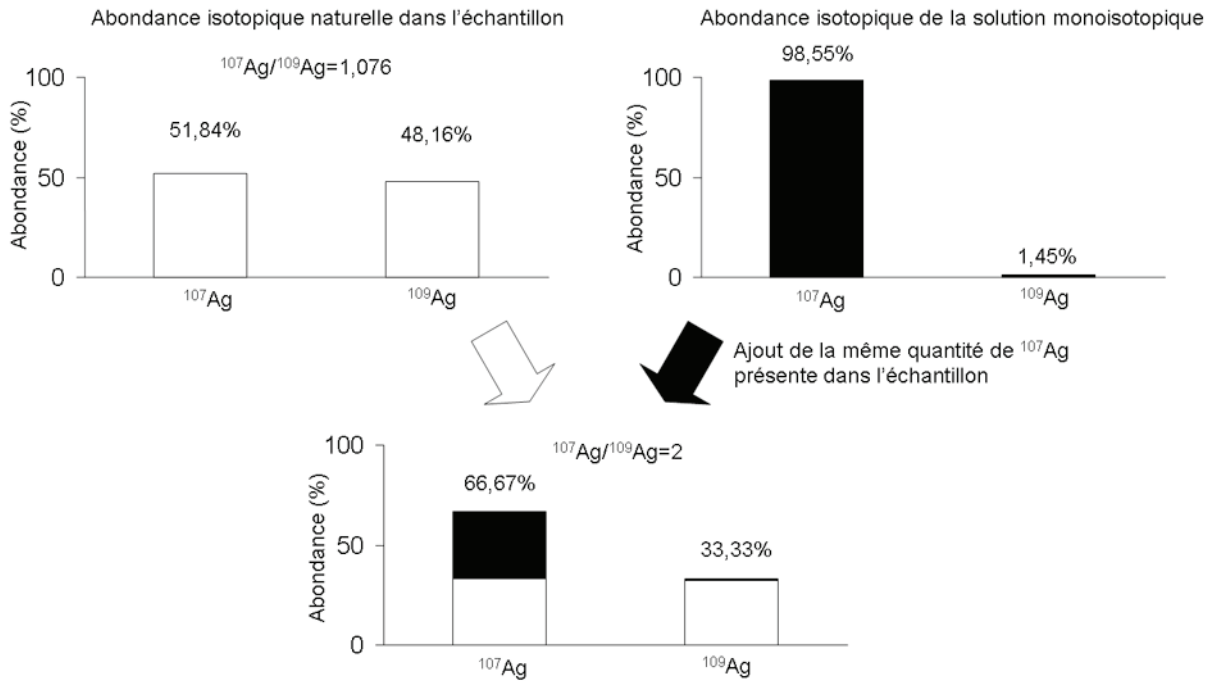

Figure 2.7. *Principe de la dilution isotopique.*

En pratique, le dopage doit permettre de changer de plus de 20% le rapport naturel pour obtenir une fiabilité optimale (e.g. Hintelmann et Evans, 1997 ; Monperrus et al., 2004 ; Fig. 2.7). Pour cela, 20 à 100 µl d'une solution contenant à 98,55% l'isotope ^{107}Ag (0,282 pg/µl ; Oak Ridge National Laboratory ; USA) a été ajoutée aux échantillons 24 h avant leur extraction sur résine. Après équilibration, cet isotope est soumis aux mêmes transformations physico-chimiques inhérentes au protocole d'extraction que les analytes ^{107}Ag et ^{109}Ag naturellement présents dans l'échantillon. Cette technique, basée sur le rapport des isotopes, a été choisie afin de s'affranchir des pertes liées au rendement d'extraction solide-liquide et à l'affinité des différents chlorocomplexes de Ag pour la résine (Barriada et al., 2007).

L'analyse du signal transitoire par ICP-MS (cf 2.2.4.) permet de déterminer le rapport R des aires des signaux transitoires des isotopes ^{107}Ag et ^{109}Ag entrant dans le calcul de la concentration par dilution isotopique (éq. 2.1). La concentration initiale en Ag de l'échantillon est calculée comme suit :

$$C_x = C_y \times \frac{v_y}{v_x} \times \frac{A_y - B_y \times R_n}{B_x \times R_n - A_x} \times \frac{AW_x}{AW_y}$$

éq. 2.1. *Calcul de concentration par dilution isotopique*, avec :

C_x : la concentration en Ag de l'échantillon (ng/ml)

$C_{y:}$: la concentration en Ag de la solution mono-isotopique ajoutée (ng/ml)

v_x : le volume de la prise d'essai de l'échantillon (ml)

v_y : le volume de l'ajout mono-isotopique (ml)

A_x : l'abondance de l'isotope de référence (^{109}Ag) dans l'échantillon

A_y : l'abondance de l'isotope de référence (^{109}Ag) dans la solution mono-isotopique ajoutée

B_x : l'abondance de l'isotope dopant (^{107}Ag) dans l'échantillon

B_y : l'abondance de l'isotope enrichi (^{107}Ag) dans la solution mono-isotopique ajoutée

R_n : le ratio mesuré isotope de référence/isotope ajouté dans l'échantillon dopé

AW_x : la masse atomique de Ag dans l'échantillon naturel (107,87 u)

AW_y : la masse atomique de Ag dans la solution mono-isotopique (106,93 u)

La mesure des rapports isotopiques par ICP-MS induit un facteur de biais de masse inhérent à l'efficacité du transport des ions au spectromètre de masse en fonction de leur masse. Dans le cas de Ag, la transmission de l'isotope ^{109}Ag peut-être supérieure à celle de ^{107}Ag et augmenter le signal mesuré pour ^{109}Ag. Dans ce cas, le rapport isotopique mesuré peut être différent du rapport attendu.

Pour corriger ce facteur de biais de masse, une solution de thallium (2 µg/l) acidifiée (HNO_3 1% m/v) certifiée isotopiquement a été dosée en continue et en parallèle des isotopes de Ag. Pour 2300 dosages, le rapport $^{203}Tl/^{205}Tl$ mesuré était de 2,411±0,108 pour un rapport isotopique certifié à 2,387 soit une surestimation de 1%. Bien que la correction du facteur de biais de masse, selon la relation (éq. 2.2) donnée par Monperrus et al. (2004), doive se faire avec un élément de masse atomique similaire, son application pour la correction du rapport $^{107}Ag/^{109}Ag$ permet d'estimer une erreur de concentration égale à ~1 %, soit de ~0,01 à 0,1 ng/l pour une gamme de concentrations en Ag_D de 1 à 10 ng/l, qu'on considèrera comme négligeable par la suite.

$$R(^{107}Ag/^{109}Ag)_{corrigé} = R(^{107}Ag/^{109}Ag)_{mesuré} \times \underbrace{\left(1 + \frac{R(^{205}Tl/^{203}Tl)_{naturel}}{R(^{205}Tl/^{203}Tl)_{mesuré} \times A_r(Tl)} \times n\right)}_{a}$$

éq. 2.2. *Correction du biais de masse (adapté d'après Monperrus et al., 2004)*, avec :

R : rapport isotopique

a : facteur de biais de masse par unité de masse

$A_r(Tl)$: masse atomique du Thallium =204,4 u

n : différence de masse entre les isotopes ^{107}Ag et ^{109}Ag

2.2.2.c. Extraction et mesure des chlorocomplexes de Ag

L'extraction solide-liquide est réalisée à l'aide d'une mini colonne (Global FIA Inc.) de volume interne 85 µl, remplie de résine échangeuse d'anions (Dowex 1-X8, maille 200–400, Supelco) et disposée dans un porte colonne. Avant toute utilisation, la résine est rincée une première fois à l'eau Milli-Q (6 ml), puis avec HNO_3 (3 ml, 2M, Plasmapur) et enfin à l'eau Milli-Q (6 ml). Cette opération a été répétée cinq fois. Des blancs constitués d'eau Milli-Q spikée en ^{107}Ag ainsi que des eaux certifiées sont dosés pour vérifier la propreté de la résine et son rendement de rétention/restitution.

Le protocole de séparation, de concentration et de dosage des échantillons d'eau salée est constitué de quatre étapes (Tab. 2.2) :

1) L'échantillon de 12 ml, préalablement traité aux UV, acidifié (0,5 % ; 12M HCl ; Baker Instra) et spiké en ^{107}Ag, est passé à travers la résine à l'aide d'une pompe péristaltique (3 ml/min). La matrice est recueillie dans une poubelle à la sortie de la colonne. La résine

retient les chlorocomplexes de Ag chargés négativement ($AgCl_2^-$, $AgCl_3^{2-}$, $AgCl_4^{3-}$; Barriada et al., 2003, 2007).

2) De l'eau Milli-Q (6 ml ; 3 ml/min) permet de rincer la résine.
3) La résine est ensuite éluée en ligne avec l'ICP-MS, en sens inverse de son chargement, à l'aide d'acide nitrique (2 ml ; 1 ml/min ; 2M HNO_3 ; Instra).
4) La résine est rincée et reconditionnée par le passage d'eau Milli-Q (6 ml ; 3 ml/min).

Tableau 2.2. *Cycle opératoire de l'analyse de Ag dissous par élution en ligne.*

Étape	Temps	Vitesse	Réactif	Fonction
1	4 min	3 ml/min	Échantillon (12ml)	Chargement
2	2 min	3 ml/min	Eau Milli-Q	Rinçage
3	2 min	1 ml/min	HNO_3 2M	Elution
4	2 min	3 ml/min	Eau Milli-Q	Reconditionnement

Deux systèmes de résine ont été constitués afin de diminuer le temps d'analyse. Lors de l'élution en ligne et du reconditionnement de la première résine, la seconde résine est chargée et rincée sur un circuit parallèle (Fig. 2.8).

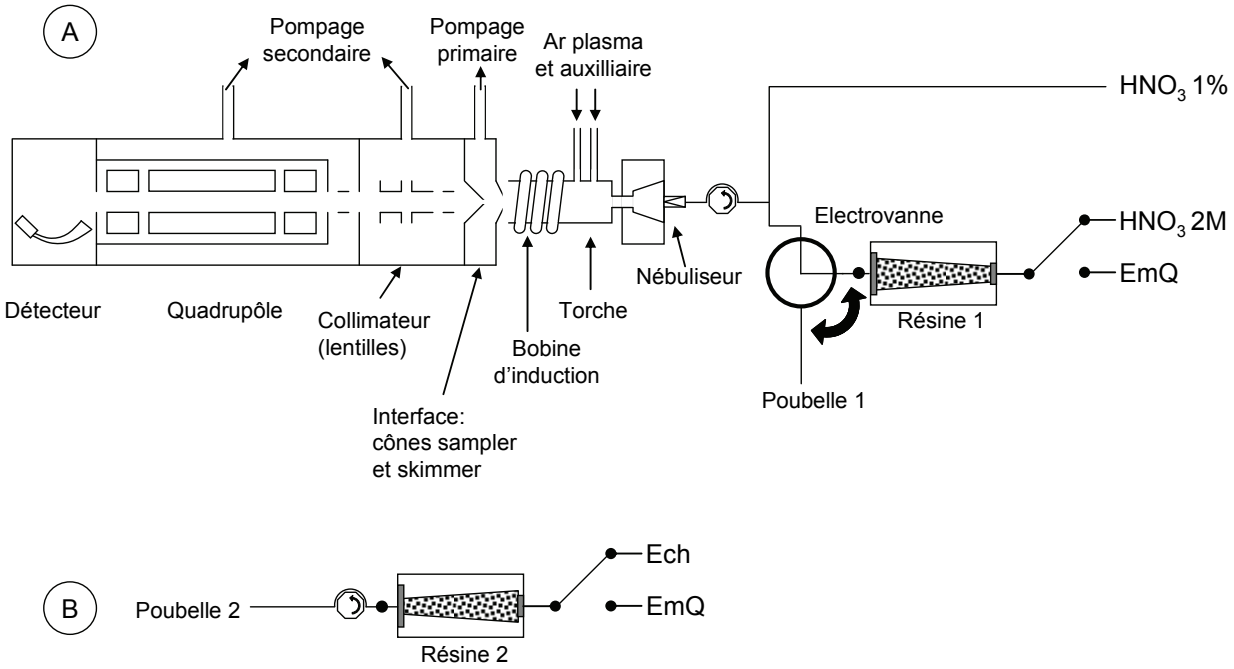

Figure 2.8. *Schéma du couplage colonne de résine-ICP-MS. A : La résine 1, préalablement chargée avec un échantillon α, est éluée en ligne avec l'ICP-MS (étape 3). B : la résine 2 est chargée avec un échantillon β (étape 1). Pour optimiser le temps d'analyse, les phases A et B sont effectuées en parallèle.*

2.2.3. Mesure des concentrations en Ag dans la phase particulaire

2.2.3.a. Concentrations totales en Ag particulaire

Les concentrations totales en Ag_P sont déterminées après mise en solution des sédiments et des particules en suspension par une attaque totale (e.g. Audry et al., 2004a ; Blanc et al., 1999 ; Schäfer et al., 2002 ; Fig. 2.9). Un aliquot de 30 mg, représentatif de l'échantillon broyé et homogénéisé, est disposé dans un tube d'attaque (DigiTUBE, SCP SCIENCE) auquel est ajouté une solution triacide composée de 1,5 ml de HCl (12M, Suprapur ou Plasmapur), de 0,5 ml de HNO_3 (14M, Suprapur ou Plasmapur) et de 2 ml de HF (22M, Suprapur ou Plasmapur). Les particules sont alors digérées (tube fermé) pendant 2 heures à 110°C (DigiPREP MS ; SCP SCIENCE). La solution résultante est évaporée. Le résidu est dissous dans 250 µl de HNO_3 (14M, Suprapur ou Plasmapur) et 5ml d'eau Milli-Q puis chauffé à 80°C pendant 15 min. Une fois refroidi, 3,5 ml de surnageant sont prélevés et dilués par de l'eau Milli-Q jusqu'à un volume final de 10 ml (1 % m/v HNO_3). La solution est diluée une nouvelle fois pour son analyse à l'ICP-MS. Chaque série d'analyses comprend 40 échantillons, 4 échantillons de sédiments de référence certifiés et 4 blancs. Les concentrations en Ag mesurées dans les blancs correspondent à la pollution apportée à la fois par les réactifs et par la manipulation. Ils sont donc retranchés aux concentrations obtenues après l'attaque totale des échantillons.

2.2.3.b. Spéciation solide de Ag par extractions sélectives en parallèle

Dans l'estuaire de la Gironde et ses bassins versants, le transport des métaux est principalement réalisé par la phase particulaire (e.g. Cd ; Schäfer et al., 2002). La mobilité et la biodisponibilité d'un métal dans l'environnement sont liées à sa spéciation solide. Afin de déterminer la distribution de Ag parmi les différentes phases particulaires (métaux échangeables ; carbonates ; fractions soit réductible des hydroxydes de Fe et de Mn soit oxydable des matières organiques et des sulfures labiles ; minéraux résiduels), la spéciation solide de Ag a été déterminée opérationnellement par extractions sélectives en parallèle des sédiments et des particules (Audry, 2003 ; Tessier et al., 1979).

La méthode des extractions sélectives parallèles est basée sur l'extraction en parallèle d'aliquotes d'un échantillon homogène. L'avantage de cette méthode est de limiter la contamination

(Quevauviller, 1998), la perte de matériel ou encore le transfert d'une phase porteuse à l'autre (Rosenberg et Ariese, 2001), qui pourraient avoir lieu durant les différentes étapes de la méthode d'extraction séquentielle d'un même aliquote. Le protocole d'extraction des différentes fractions particulaires correspond à celui détaillé par Audry (2003) et est synthétisé par la figure 2.9. Ces fractions sont :

- ✓ Fraction Acétate (I) : Ag lié aux carbonates et adsorbé (« échangeable »).

Une solution de NaOAc 1M / HOAc permet la dissolution de la fraction solide carbonatée de l'échantillon à un pH ~5 (Tessier et al., 1979), mais aussi d'une partie de la fraction des métaux provenant d'autres phases (Pickering, 1986), comme les oxydes (Martin et al., 1987) ou la matière organique (Slaveck et al., 1982). Cette fraction correspond à l'extraction des métaux « faiblement liés à des sites spécifiques, principalement inorganiques » (McLaren et Crawford, 1973), « spécialement adsorbés » (Pickering, 1986) ou encore « échangeables à pH 5 » (Martin et al., 1987).

- ✓ Fraction Ascorbate (II) : Ag lié aux oxydes de Mn et aux oxydes de Fe(III) réactifs.

Les oxydes de Fe et Mn sont présents dans l'eau et les sédiments dans différentes formes (e.g. nodules, concrétions, liaisons entre particules, à la surface des particules) et sont d'excellents pièges à métaux (Dzombak et al., 1987). Ces oxydes sont instables dans des conditions réductrices, c'est pourquoi une solution d'ascorbate (5:5:2 citrate de sodium, bicarbonate de sodium, acide ascorbique) a été utilisée pour attaquer (pH ~ 8) par réduction les oxydes de Fe les plus réactifs (amorphes) et les oxydes de Mn (Anschutz et al., 1998, 2000).

- ✓ Fraction H_2O_2 (III) : Ag lié à la matière organique et aux sulfures.

Plusieurs formes de matières organiques (e.g. organismes, biofilms, substances humiques) peuvent adsorber et complexer les métaux traces (Santschi et al., 1997). La dégradation de ces matières organiques par oxydation au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) permet de solubiliser les métaux traces qui leurs sont liés de même qu'une partie des métaux liés aux sulfures. L'extraction de la fraction organique est réalisée à pH 5 par une solution H_2O_2 / NH_4OAc (Ma et Uren, 1995).

- ✓ Fraction HCl (IV) : Ag lié à la fraction « hydrosoluble ».

La fraction considérée comme étant potentiellement biodisponible des métaux est sélectivement extraite par une attaque HCl (1M) (Bryan et Langston, 1992 ; Langston et al., 1999). Cette attaque met en solution les métaux particulaires réactifs associés à la fraction réductible (oxydes de Fe et de

Mn), à la fraction carbonatée, les silicates d'aluminium hydratés (Huerta-Diaz et Morse, 1990 ; 1992) sans inclure les produits d'oxydation des monosulfures de Fe bien cristallisés (i.e. goethite et hematite ; Raiswell et al., 1994).

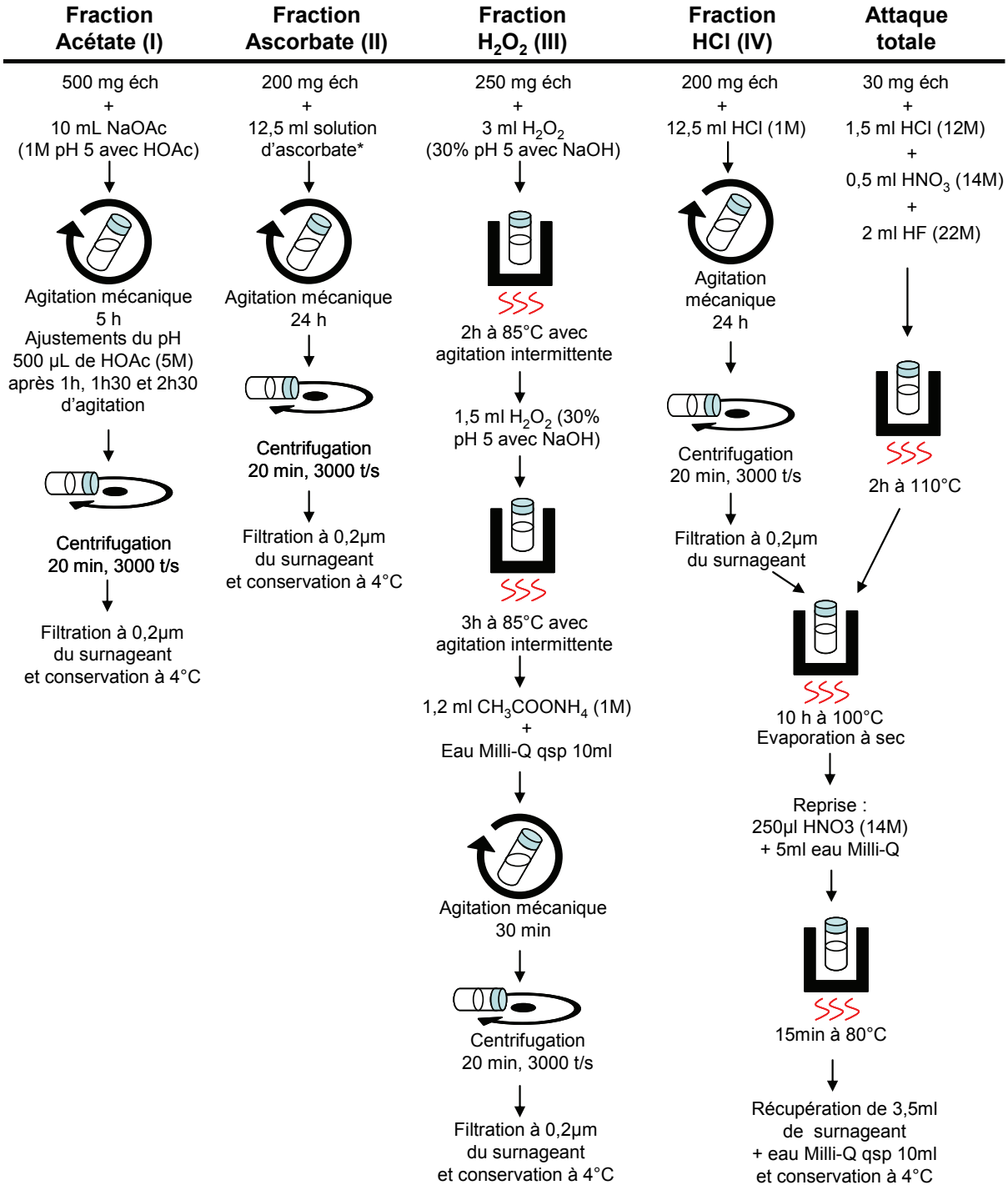

Figure 2.9. *Protocole opératoire des attaques sélectives et totale des particules et du sédiment adapté d'Audry (2003).* 5/12 $CHNaO_3$+5/12 $C_6H_5Na_3O_7$*H_2O+2/12 $C_6H_8O_6$.*

2.2.4. Traitement du signal

Les concentrations en Ag_D (eau douce) et Ag_P (attaques totales et sélectives) sont obtenues en routine par l'analyse des isotopes ^{107}Ag et ^{109}Ag par ICP-MS. Chaque résultat de l'analyse d'un isotope correspond à la moyenne de trois mesures (nombre de coups) d'un même échantillon. L'utilisation d'une calibration externe (solutions étalon) permet la conversion du nombre d'ions mesuré pour un isotope directement en concentration de l'élément.

Les concentrations en Ag_D en matrice saline, obtenues après élution en ligne des résines Dowex, sont calculées à partir des mesures haute fréquence (toutes les 10 ms) de chaque isotope. L'acquisition du signal transitoire est quasi-simultanée pour les différentes masses sélectionnées. Le chromatogramme correspond au nombre d'impulsions détectées durant le temps d'acquisition (Fig. 2.10). L'intégration des aires des pics correspondant aux nombres de coups enregistrés pour chaque isotope ^{107}Ag et ^{109}Ag dans le temps est réalisée à l'aide du logiciel PlasmaLab (Thermo Scientific).

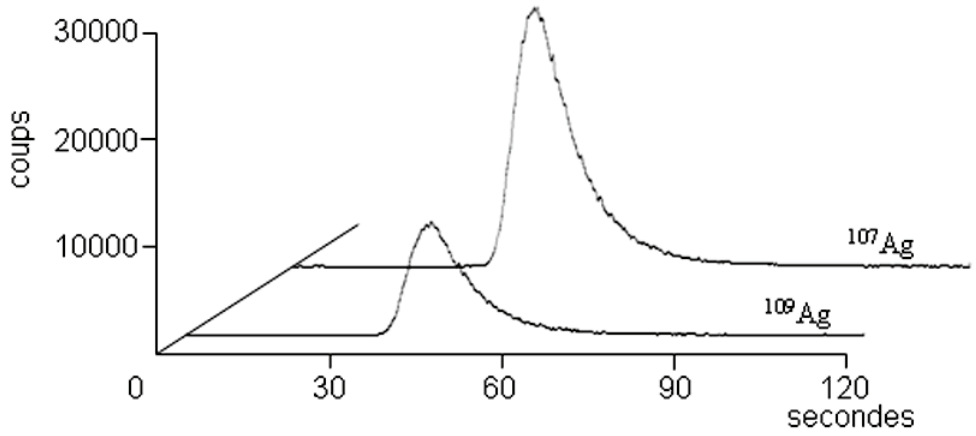

Figure 2.10. *Exemple de chromatogramme des isotopes ^{107}Ag et ^{109}Ag obtenu après dopage en ^{107}Ag (méthode de dilution isotopique).*

2.2.5. Contrôle qualité et performances analytiques

2.2.5.a. Limites de détections

La limite de détection a été calculée comme étant égale à 3 fois l'écart type des blancs. On calcule la limite de détection de l'appareil à partir des blanc de gamme (HNO_3 1%) et la limite de détection

d'analyse à partir des blancs d'analyse témoignant de l'ensemble des étapes potentiellement contaminantes (prélèvement, filtration, réactifs…).

Tableau 2.3. *Exemples de limites de détection (3ET) de Ag pour différents types d'analyse.*

	Limite de détection de Ag	Nombre d'échantillons
ICP-MS (HNO_3 ultrex 1%)	0,5 ng/l	210
Ag_D (filtration <0,2µm)	0,5 ng/l	5
Ag_P (Attaque totale)	0,007 mg/kg	42
Ag_P (Attaque HCl)	0,006 mg/kg	4
Ag_P (Attaque acétate)	0,0004 mg/kg	3
Ag_P (Attaque ascorbate)	0,0002 mg/kg	3
Ag_P (Attaque H_2O_2)	0,0002 mg/kg	3
Ag_D (résine ; sans traitement UV)	0,17 ng/l	4
Ag_D (résine ; avec traitement UV)	0,28 ng/l	4

Les limites de détection sont calculées pour chaque type d'analyse (Tab. 2.3). L'acquisition d'un signal transitoire lors des mesures de Ag par extraction sur résine et dilution isotopique permet d'obtenir une limite de détection inférieure à celle mesurée pour l'ICP-MS lors des analyses classiques.

Tableau 2.4. *Matériaux de référence dosés. Att. Tot. : attaque totale ; D.I. : dilution isotopique ; UV : ultraviolets ; nd :non déterminée.*

Matériel de Référence	Description	n	Valeur certifiée	Valeur mesurée moy±ET	Unité	Méthode
NCS DC 78301	sédiment de rivière	97	nd	0,62 ± 0,08	mg/kg	Att. Tot.
LKSD-4	sédiment de lac	23	<0,5 (0,2 ; eau régale)	0,28 ± 0,02	mg/kg	Att. Tot.
LGC 6187	sédiment de rivière	23	nd	2,42 ± 0,17	mg/kg	Att. Tot.
IAEA-405	sédiment estuarien	21	nd	0,99 ± 0,11	mg/kg	Att. Tot.
IAEA-356	sédiment marin pollué	11	5,19-11,6	7,22 ± 1,11	mg/kg	Att. Tot.
NCS-DC-70311	sédiment de rivière	10	6,11-7,35	6,13 ± 0,32	mg/kg	Att. Tot.
NCS-DC-70317	sédiment de rivière	10	0,30-0,34	0,37 ± 0,02	mg/kg	Att. Tot.
NIST-1640 dilué 1000 fois	eau de rivière	23	7,62	7,65 ± 0,23	ng/L	En direct
NIST-1640 dilué 1000 fois	eau de rivière	3	7,62	7,49 ± 0,10	ng/L	D.I.
NIST-1640 dilué 1000 fois	eau de rivière	3	7,62	7,21 ± 0,54	ng/L	U.V.+D.I.
SLEW-3	eau estuarienne (S=15)	3	3 (valeur informative)	2,64 ± 0,39	ng/L	U.V.+D.I.
CASS-4	eau côtière (S=30,7)	3	nd	6,53 ± 0,45	ng/L	D.I.
CASS-4	eau côtière (S=30,7)	3	nd	10,2 ± 0,86	ng/L	U.V.+D.I.
CASS-5	eau côtière (S=33,5)	5	nd	1,74 ± 0,04	ng/L	D.I.

2.2.5.b. Justesse et précision

L'analyse de matériaux de référence certifiés (MRC) permet d'estimer la justesse des analyses et l'efficacité des techniques de mise en solution des ETM liés aux particules et de leur extraction de la matrice. Les MRC utilisés doivent être le plus proche possible des échantillons en concentration et en nature. Les MRC dosés dans le cas de cette étude sont reportés dans le tableau 2.4.
Les concentrations mesurées en Ag pour les sédiments et les eaux de référence sont systématiquement en accord avec la gamme des valeurs certifiées (Tab. 2.5). La précision (écart-type relatif à la moyenne) des mesures est inférieure à 3% pour une concentration en Ag_P de 0,32 mg/kg (n=9) et inférieure à 10% pour une concentration en Ag_D de 0,76 ng/l (n=9).

La mesure des concentrations en Ag_D par dilution isotopique et élution en ligne (résine-ICP-MS) nécessite un ajout mono-isotopique qui permette de changer de plus de 20% le rapport naturel (e.g. Hintelmann et Evans, 1997 ; Monperrus et al., 2004). Cependant, la modification du rapport isotopique naturel en Ag, d'un facteur compris entre 1,7 et 6 fois, n'affecte pas les concentrations en Ag_D calculées pour un même échantillon, et cela se vérifie à différentes salinités (Fig. 2.11).

Tableau 2.5. *Matériaux de référence dosés. Att. Tot. : attaque totale ; D.I. : dilution isotopique ; UV : ultraviolets ; nd :non déterminée.*

Matériel de Référence	Description	n	Valeur certifiée	Valeur mesurée moy±ET	Unité	Méthode
NCS DC 78301	sédiment de rivière	97	nd	0,62 ± 0,08	mg/kg	Att. Tot.
LKSD-4	sédiment de lac	23	<0,5 (0,2 ; eau régale)	0,28 ± 0,02	mg/kg	Att. Tot.
LGC 6187	sédiment de rivière	23	nd	2,42 ± 0,17	mg/kg	Att. Tot.
IAEA-405	sédiment estuarien	21	nd	0,99 ± 0,11	mg/kg	Att. Tot.
IAEA-356	sédiment marin pollué	11	5,19-11,6	7,22 ± 1,11	mg/kg	Att. Tot.
NCS-DC-70311	sédiment de rivière	10	6,11-7,35	6,13 ± 0,32	mg/kg	Att. Tot.
NCS-DC-70317	sédiment de rivière	10	0,30-0,34	0,37 ± 0,02	mg/kg	Att. Tot.
NIST-1640 dilué 1000 fois	eau de rivière	23	7,62	7,65 ± 0,23	ng/L	En direct
NIST-1640 dilué 1000 fois	eau de rivière	3	7,62	7,49 ± 0,10	ng/L	D.I.
NIST-1640 dilué 1000 fois	eau de rivière	3	7,62	7,21 ± 0,54	ng/L	U.V.+D.I.
SLEW-3	eau estuarienne (S=15)	3	3 (valeur informative)	2,64 ± 0,39	ng/L	U.V.+D.I.
CASS-4	eau côtière (S=30,7)	3	nd	6,53 ± 0,45	ng/L	D.I.
CASS-4	eau côtière (S=30,7)	3	nd	10,2 ± 0,86	ng/L	U.V.+D.I.
CASS-5	eau côtière (S=33,5)	5	nd	1,74 ± 0,04	ng/L	D.I.

Afin de contrôler la qualité des mesures des concentrations en Ag_D dans une gamme de salinité (0-35) représentative du gradient salin estuarien, les concentrations en Ag mesurées dans les MRC ont été comparées aux valeurs mesurées dans la littérature par des méthodes identiques (Ndung'u et al., 2006 ; Yang et Sturgeon, 2002) et différentes (Morford et al., 2008 ; Ndung'u et al., 2001 ; Tab. 2.6).

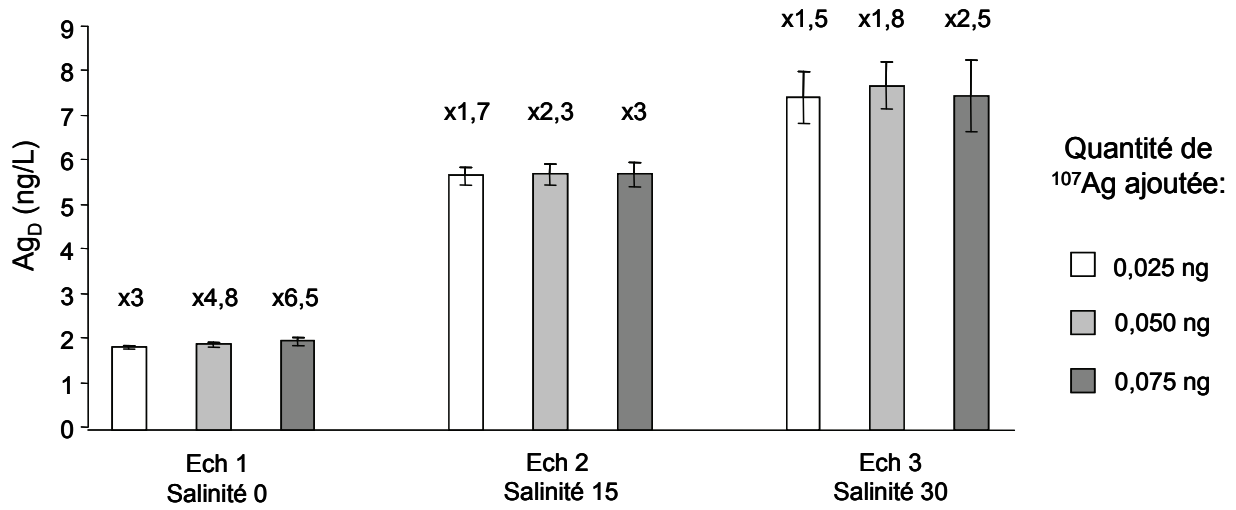

Figure 2.11. *Effet de la quantité d'isotope ^{107}Ag ajoutée pour la dilution isotopique sur la concentration moyenne en Ag_D mesurée (n=3) et facteur de modification du rapport isotopique $^{107}Ag/^{109}Ag$ associé. Les barres d'erreur représentent les écart-types des concentrations en Ag_D.*

Bien que seule la concentration en Ag dans le MRC NIST-1640 soit certifiée, les concentrations en Ag_D mesurées par la méthode d'élution en ligne (dilution isotopique et résine-ICP-MS) sont en accord avec celles présentées dans la littérature avec et sans traitement aux ultraviolets (Tab. 2.6).

Tableau 2.6. *Comparaison des concentrations en Ag dissous (Ag_D ; moy±ET) obtenues par la méthode de séparation en ligne (dilution isotopique et résine-ICP-MS) employée dans cette étude avec les valeurs de la littérature pour différents types de matériaux de référence en matrice saline (SLEW-3, CASS-4, CASS-5) et en eau douce (NIST-1640) et effet du traitement aux ultraviolets sur ces concentrations. n : nombre d'analyses.*

Eau de référence	Salinité	Ag_D certifiée (ng/l)	Ag_D mesurée (ng/l)	n	Référence
Sans traitement UV					
NIST-1640 (diluée 1000 fois)	0	7,62	7,49 ± 0,10 [1]	3	Cette étude
CASS-4	30,7	nd	6,53 ± 0,45 [1]	3	Cette étude
			5,72 ± 0,32 [2]	5	Morford et al., 2008
			6,36 ± 1,08 [2]	2	Morford et al., 2008
			5,72 ± 0,32 [2]	15	Morford et al., 2008
			5,42 ± 0,08 [3]	3	Yang et Sturgeon, 2002
			6,11 ± 0,90 [4]	7	Ndung'u et al., 2001
CASS-5	33,5	nd	1,74 ± 0,04 [1]	5	Cette étude
Avec traitement UV					
NIST-1640 (diluée 1000 fois)	0	7,62	7,21 ± 0,54 [1]	3	Cette étude
SLEW-3	15	~3	2,64 ± 0,39 [1]	3	Cette étude
			2,97 ± 0,77 [1]	33	Ndung'u et al., 2006
CASS-4	30,7	nd	10,19 ± 0,86 [1]	3	Cette étude
			8,48 ± 1,96 [1]	21	Ndung'u et al., 2006

[1]Élution en ligne de Ag_D (dilution isotopique et résine-ICP-MS) ; [2]Dilution isotopique et co-précipitatipon de Ag_D et Cobalt-APDC (Boyle et Edmond, 1977 ; Kalnejais, 2005) ; [3]Élution en ligne de Ag_D (dilution isotopique et résine-ICP-MS) ; [4]Extraction liquide-liquide APDC/DDDC de Ag_D (Bruland et al., 1985)

2.3. Calcul des flux bruts (entrant) et des flux nets (sortant)

La comparaison des flux bruts (entrant) et des flux nets (sortant) de l'estuaire permet d'une part, d'estimer le bilan intra estuarien et côtier et d'autre part, d'estimer l'influence des processus d'échange intervenant sur la spéciation et la répartition des ETM dans le gradient de salinité.

2.3.1. Calcul des flux bruts

Les flux bruts sont calculés en amont de la limite de marée dynamique où le sens d'écoulement est uniquement dirigé de l'amont vers l'aval. Les flux annuels pour un élément se calculent à partir des débits, des concentrations en MES et des concentrations dissoute (éq. 2.3) et particulaire (éq 2.4) de l'élément.

$$F_{d,X} = \frac{\sum_i [X]_{d,i} \times Q_i}{\sum_i Q_i} \times F_{eau} = C^*_{d,X} \times F_{eau}$$

éq. 2.3. *Calcul des flux dissous (Blanc et al., 1999 ; Meybeck et al., 1996 ; Walling et Webb, 1985).*
Où :
$[X]_{d,i}$ est la concentration dissoute de l'espèce X (en ng/l) pour l'échantillon i
Q_i représente le débit journalier correspondant à la date de prélèvement de l'échantillon i
F_{eau} représente le flux d'eau de l'année et $C^*_{d,X}$ représente la concentration typique annuelle de X pondérée par les débits.

$$F_{j,p,X} = Q_j \times [MES]_j \times [X]_{p,j}$$

éq. 2.4. *Calcul des flux particulaires*. Où :
$F_{j,p,X}$ est le flux particulaire du jour j
Q_j représente le débit journalier du jour j
$[MES]_j$ est la concentration en MES du jour j
$[X]_{p,j}$ représente la concentration particulaire de X extrapolée au jour j

Le flux annuel de X en phase particulaire est la somme des flux journaliers de l'année. Les flux bruts sont estimés en considérant que les concentrations dissoute et particulaire de l'élément étaient constantes entre deux échantillonnages (24 jours) (Audry et al., 2004b ; Blanc et al., 1999 ; Lapaquellerie et al., 1995 ; Schäfer et al., 2002). Cependant les concentrations en MES et les débits sont déterminées au quotidien afin d'approcher au mieux la forte réactivité de ces paramètres aux variations hydrologiques (Coynel et al., 2004, 2007a).

2.3.2. Calcul des flux nets

Dans l'estuaire salin, un élément est dit conservatif lorsque sa concentration dissoute évolue selon une droite de mélange physique (Boyle, 1974) entre les eaux continentales (Fig. 2.12 A) et les eaux

marines (Fig. 2.12 B). Un comportement non conservatif dépend de processus d'échanges entre la phase particulaire et la phase dissoute conséquents à des phénomènes d'adsorption/désorption, de floculation/défloculation, de précipitation/dissolution et d'assimilation/régénération biologique (Olsen et al., 1982). Une différence positive entre les concentrations de cet élément et de la droite de dilution théorique correspond à une addition de l'élément depuis la phase particulaire vers la phase dissoute. Dans le cas contraire, l'élément est soustrait de la phase dissoute vers la phase particulaire.

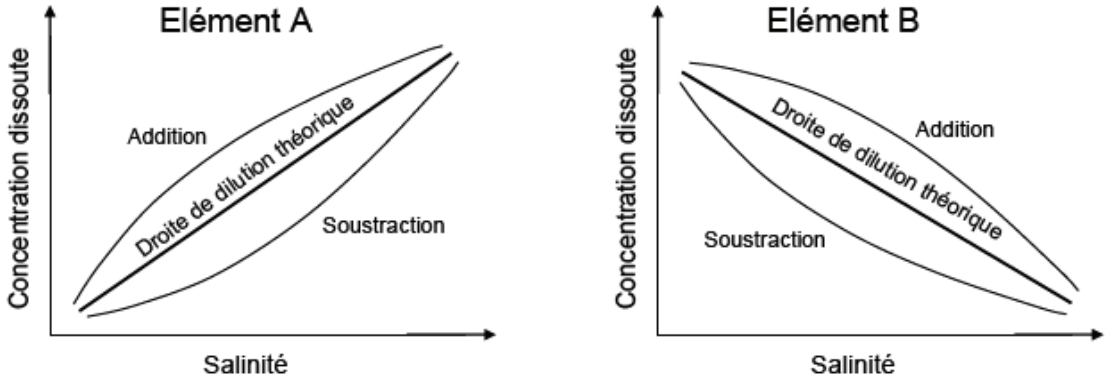

Figure 2.12. *Droite de dilution théorique et processus d'addition et de soustraction pour un élément plus concentré en milieu marin (élément A) et plus concentré en milieu fluvial (élément B).*

Le flux net instantané de Ag dissous est estimé à partir de la méthode de Boyle (Boyle et al., 1974) basée sur la distribution des concentrations de cet élément au pôle marin.
Selon Boyle et al. (1974, 1982), le flux net instantané (F_t) d'un élément dissous X pour l'isohaline S au temps t est :

$$F_t = Q_t\left([X]-[S]\frac{d[X]}{d[S]}\right)$$

éq. 2.5. *Calcul du flux net instantané (F_t) avec Qt le débit fluvial au temps t, [X] la concentration de l'élément d'intérêt et [S] la salinité.*

Dans le cas d'un comportement conservatif de l'élément d'intérêt, il existe une relation linéaire entre la concentration de cet élément et la salinité. Par conséquent, le rapport d[X]/d[S] est constant et égal à la pente de la droite [X]=f([S]). Pour chaque salinité [S] :

$$[X]_S - [S]\frac{d[X]_S}{d[S]}$$

est constant et égal à l'intersection de la droite [*X*]=f([*S*]) avec l'axe des ordonnées, soit la concentration fluviale théorique estimée $[X]_0$. Finalement, le flux net instantané de l'élément se calcule ainsi :

$$F_t = Q_t [X]_0$$

éq. 2.5. *Calcul du flux net instantané (F_t) avec :Qt le debit fluvial au temps t et $[X]_0$ la concentration fluviale estimée par l'équation [X]=f([S]) pour S=0.*

L'extrapolation de ce flux à la journée par le débit journalier Q_{fw} permet de calculer le flux net journalier (F_{NET}) comme suit:

$$F_{NET} = Q_{fw} [X]_0$$

Dans le cas d'un élément ayant un comportement non-conservatif additif comme Ag (Tappin et al., 2010), la relation linéaire entre la concentration de l'élément et la salinité est recherchée sur un nombre limité de couples ([*S*]) ; [*X*]) du pôle marin (Boyle et al., 1974, 1982).

2.4. Bioaccumulation de Ag chez les crevettes et les anguilles de l'estuaire de la Gironde

Le degré de contamination en ETM des anguilles et des crevettes dans l'estuaire de la Gironde est d'intérêt social, économique, écologique et scientifique. L'exploitation des concentrations en contaminants inorganiques et organiques dans les anguilles et dans l'environnement, de même que l'influence de ces contaminants sur l'expression génétique a été réalisée au sein du projet EEL-scope (Renault, thèse en préparation). Les actions menées pour cette étude concernent uniquement la distribution de Ag dans les organes (organotropisme) et les niveaux de concentration de ce métal dans les crevettes et les anguilles.

2.4.1. Expérimentation *in-situ*

L'objectif de l'expérimentation *in-situ* était d'acquérir des connaissances sur les voies d'exposition, l'accumulation et les effets génétiques des polluants sur les anguilles européennes *Anguilla anguilla* dans l'estuaire de la Gironde.

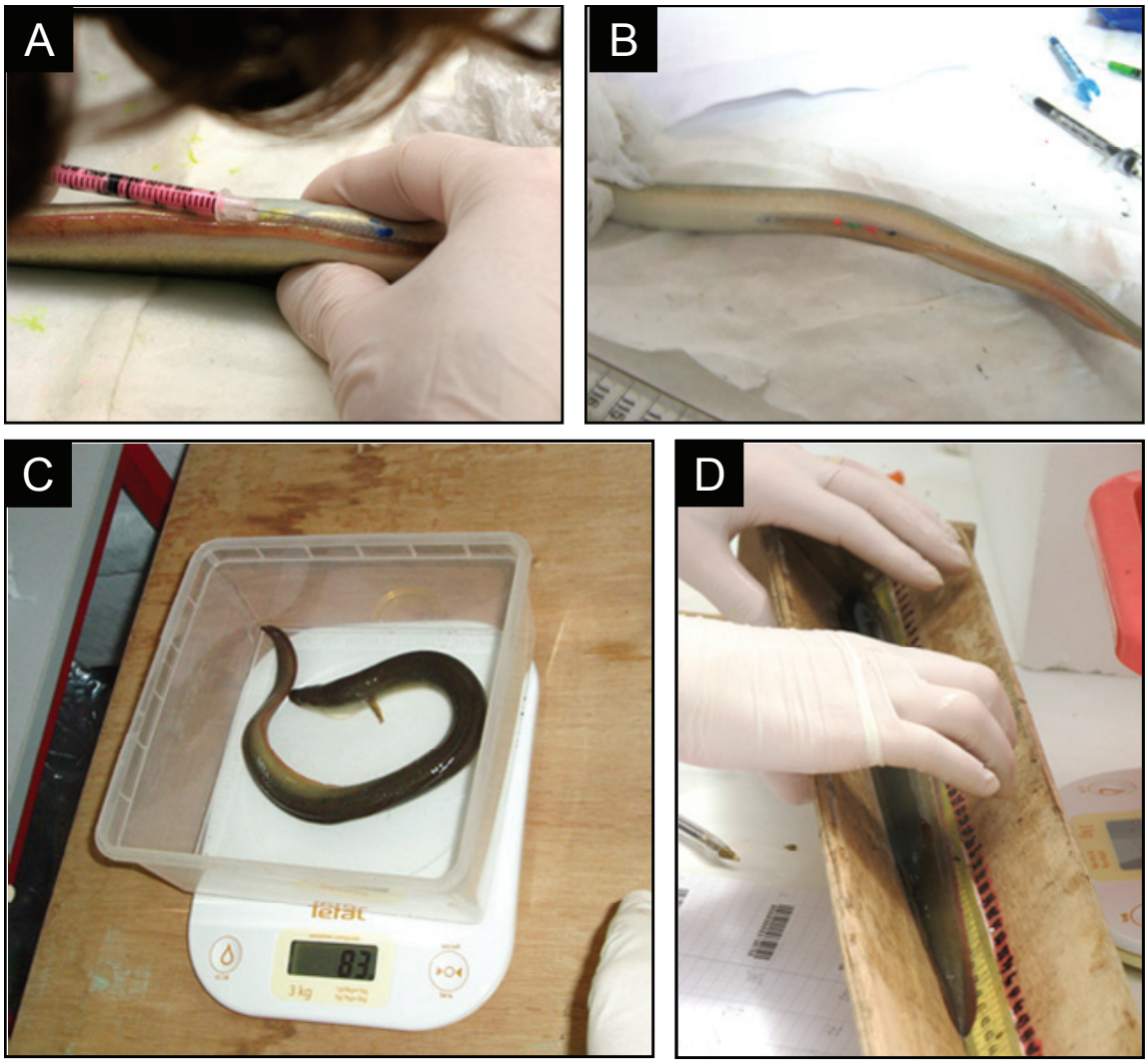

Figure 2.13. *Codage (A et B) par injection de silicone coloré, pesée et mesure de la taille des anguilles destinées à l'expérimentation de terrain (caging).*

Le principe de l'expérimentation était d'exposer des anguilles issues d'un milieu considéré comme non contaminé à une contamination par voie directe et par voie trophique correspondant à un niveau environnemental. Pour cela, des anguilles pêchées dans le domaine de Certes (réserve naturelle du Bassin d'Arcachon) ont été marquées, pesées et mesurées (Fig. 2.13) avant d'être immergées dans des cages lestées (Fig. 2.14) sur quatre sites clés de l'estuaire de la Gironde : Cadaujac et Bordeaux pour la Garonne, Libourne pour la Dordogne et Pauillac pour l'estuaire central (Fig. 2.15). Ces sites bénéficient d'une mesure en continu et à très haute fréquence des paramètres physico-chimiques depuis 2005 (réseau MAGEST ; Fig. 2.14 D).

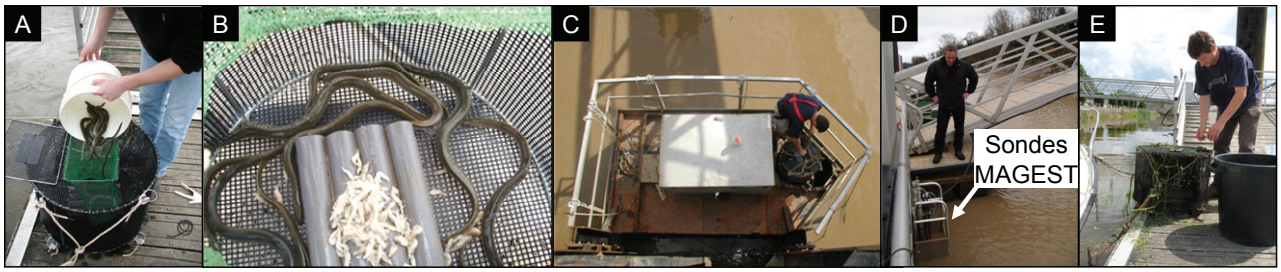

Figure 2.14. *Expérimentation de terrain (caging). Mise en cage des anguilles (A), rationnement des anguilles par une quantité adaptée de crevettes (B), mise à l'eau des différents traitements et réplicats à chaque site (C, exemple du site de Pauillac) où les paramètres physico-chimiques sont enregistrés à très haute fréquence (D ; réseau MAGEST) et entretien bihebdomadaire (E).*

Les anguilles faisaient partie d'un même lot de pêche et ont été choisies selon une taille de ~35 cm correspondant au stade jaune de développement de ce poisson. L'homogénéité du lot permet d'une part de limiter les différences interindividuelles de contamination liées à l'historique des poissons ou à leur physiologie et d'autre part de réduire les comportements de dominance et le cannibalisme dans les cages.

A chaque site, quatre cages contenant 10 anguilles chacune ont été immergées du mois de septembre au mois de novembre 2008 (Fig. 2.15). Les anguilles des deux premières cages ont été nourries avec des crevettes provenant du domaine de Certes, considérées comme faiblement contaminées, afin de tester l'effet de la voie directe d'exposition dans les différents sites en duplicat. Les anguilles des deux autres cages ont été nourries par des crevettes pêchées en Gironde au niveau de Saint Estèphe. Ce dernier duplicat a pour but de tester l'effet supplémentaire de la voie trophique sur l'accumulation des contaminants organiques et inorganiques. La levée des cages deux fois par semaine permettait de nourrir les anguilles avec des rations adaptées, d'entretenir les cages et d'avoir une grande réactivité en cas de mortalité empêchant ainsi la contamination des autres individus (Fig. 2.14 E).

Les résultats des concentrations en contaminants après trois mois d'exposition ont été comparés aux concentrations mesurées dans cinq anguilles du lot de départ disséquées le jour même où les anguilles ont été placées aux différents sites. En fin d'expérimentation, les anguilles ont été pesées et mesurées de nouveau avant l'analyse de cinq anguilles choisies arbitrairement parmi les dix anguilles présentes dans les cages. Cependant, des vols répétés à Libourne nous ont contraint à abandonner l'expérimentation sur ce site. De plus, seules deux anguilles du deuxième réplicat des anguilles nourries aux crevettes provenant de Certes et quatre des anguilles nourries aux crevettes girondines du réplicat 1 ont été analysées à Pauillac en raison d'une mortalité élevée.

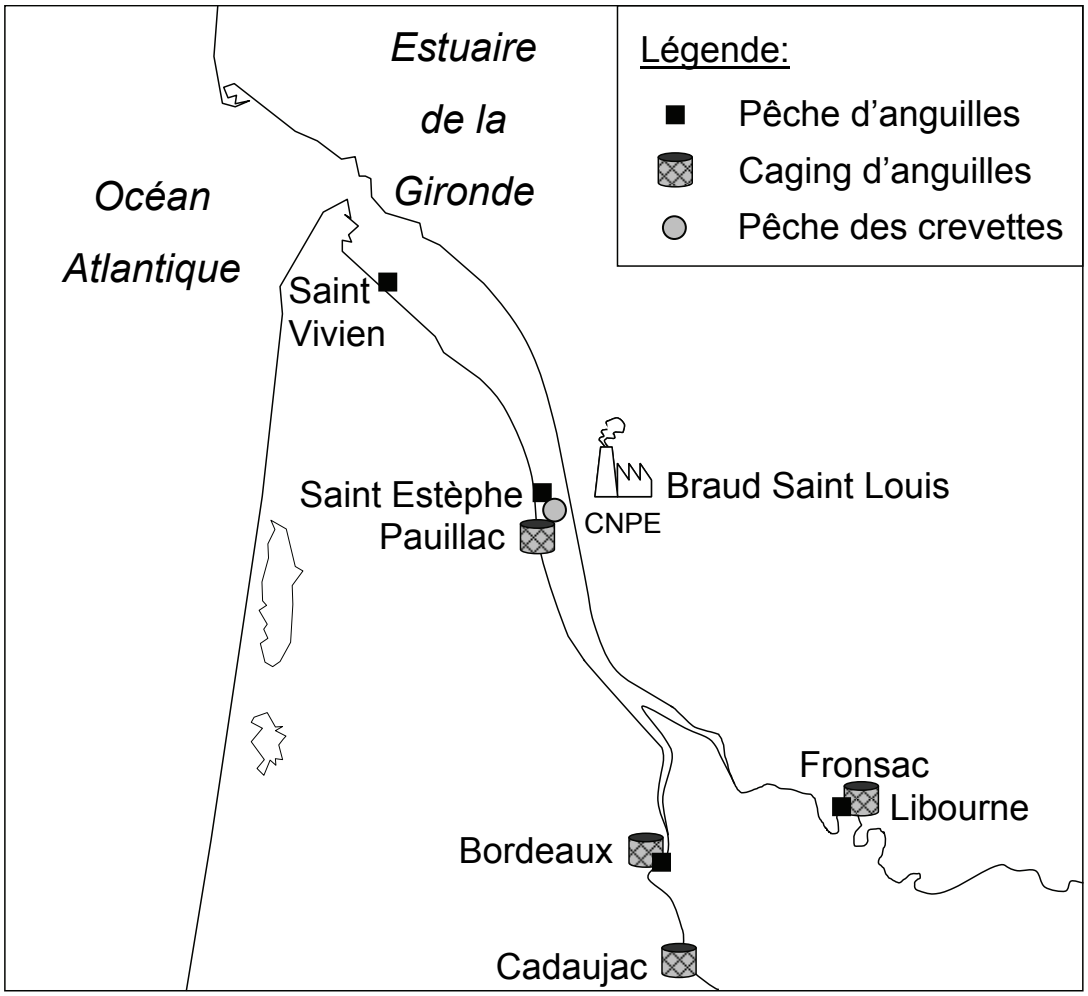

Figure 2.15. *Sites d'échantillonnage des crevettes et des anguilles et sites d'exposition des anguilles en cage (caging).*

2.4.2. Suivi des concentrations en Ag_P et Ag_D

Les concentrations dissoute et particulaire en Ag ont été mesurées à chacun des quatre sites Cadaujac, Bordeaux, Libourne et Pauillac bimensuellement pendant l'année 2008 et mensuellement pendant l'année 2009 selon la méthode de prélèvement et d'analyse décrite dans les sections 2.1 et 2.2.

2.4.3. Echantillonnage des crevettes et des anguilles

Les crevettes des espèces *Palaemon longirostris* (espèce autochtone) et *Palaemon macrodactylus* (espèce allochtone ; Fig. 2.16) ont été échantillonnées mensuellement au niveau du Centre

Nucléaire (CNPE ; PK50 ; Fig. 2.15) entre mai 2006 et juin 2007 par Mélanie Béguer à bord du navire « L'Esturial » (CEMAGREF). Cinq crevettes de taille similaire par date d'échantillonnage ont été disséquées afin de déterminer la concentration en métaux dans l'hépatopancréas et dans le muscle.

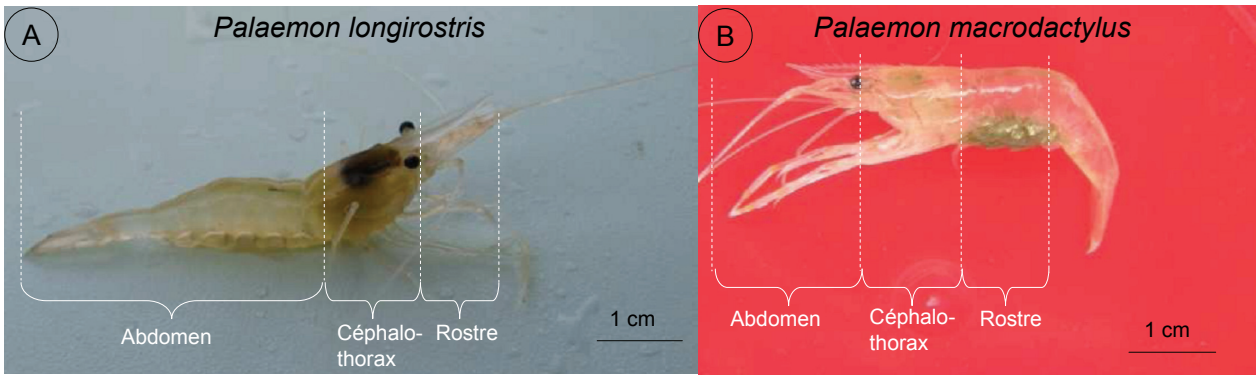

Figure 2.16. *Les deux espèces étudiées : Palaemon longirostris (A) et Palaemon macrodactylus (B). Photographies issues de Béguer (2009).*

Des anguilles européennes (*Anguilla anguilla*) au stade de développement « anguille jaune » ont été pêchées en Juillet 2009 aux sites de Libourne (S=0) pour la Dordogne, Bordeaux pour la Garonne (0<S<2), Saint Estèphe (0<S<15) et Saint Vivien (15<S<25 ; Fig. 2.15) en collaboration avec des pêcheurs professionnels. Douze anguilles dites « sauvages » par site ont été pesées et mesurées avant dissection, à l'exception du site de Bordeaux où seules six anguilles ont pu être collectées avant l'interdiction de pêche.

2.4.4. Traitement et analyse des échantillons

Les anguilles sauvages et les anguilles de l'expérimentation de terrain ont été disséquées collectivement par les différents partenaires du projet EEL-scope (Fig. 2.17). Les concentrations en métaux ont été déterminées pour :

- le muscle, les branchies, l'estomac, les intestins, les reins et le foie des anguilles.
- les crevettes entières (par lot de 3) provenant du domaine de Certes et de Gironde et ayant servi à nourrir les anguilles en cage lors de l'expérimentation de terrain.
- l'hépatopancréas et le muscle des crevettes échantillonnées au niveau du CNPE par Mélanie Béguer.

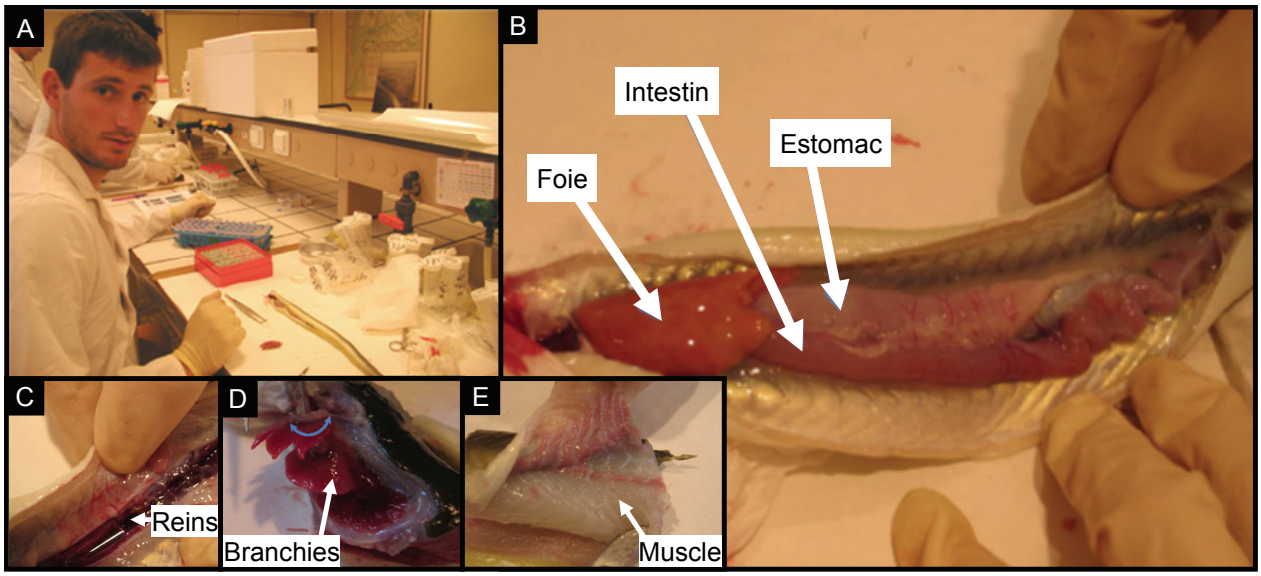

Figure 2.17. *Dissection collective des anguilles (A). Prélèvement du foie, de l'intestin et de l'estomac (B), des reins (C), des branchies (D) et du muscle (E).Photographies de S. Renault.*

Le poids frais des différents tissus a été pesé dans des tubes (DigiTube) préalablement décontaminés à l'acide et pré-pesés sur une balance de précision. Après séchage à l'étuve (48h ; 50°C), une troisième pesée a déterminé leur poids sec (Tab. 2.7). La minéralisation des échantillons a été réalisée par l'ajout de 3 ml d'acide nitrique (14M, Plasmapur). L'ensemble a été chauffé à 100°C (DigiPrep) pendant 3h (Pierron et al., 2007). Le minéralisat a ensuite été dilué par l'ajout de 15 ml d'eau Milli-Q et conservé à l'abri de la lumière et à 4°C jusqu'à analyse par ICP-MS.

Les concentrations en Ag dans les organes des anguilles exposées en cage sont exprimées en mg/kg de poids frais à la différence des concentrations en Ag des crevettes, des huîtres et des anguilles sauvages, ceci, afin de garder une mesure homogène répondant aux besoins des différents partenaires du projet EEL-scope. Néanmoins, le tableau 2.7 fourni un facteur de conversion moyen permettant de transformer les concentrations en Ag d'un poids frais d'organe vers un poids sec et inversement.

La qualité de l'analyse a été contrôlée par la minéralisation de MRC tels que DORM-2 (muscle d'aiguillat) et DOLT-3 (foie d'aiguillat). Les concentrations en Ag obtenus étaient systématiquement dans la gamme certifiée avec 0,035±0,014 mg/kg (n=8) pour DORM-2 (valeur certifiée comprise entre 0,028 et 0,054 mg/kg) et 1,16±0,06 mg/kg (n=24) pour DOLT-3 (valeur certifiée comprise entre 1,13 et 1,27 mg/kg).

Tableau 2.7. *Exemple de conversion entre poids frais et poids sec des tissus de crevette et d'anguille.*

	Organe	n	Poids frais (en g)		Poids sec (en g)		Facteur de conversion pf/ps	
			moy	ET	moy	ET	moy	ET
crevette	*hépatopancréas*	30	0,077	0,047	0,021	0,014	4,10	1,07
	muscle	30	0,274	0,135	0,059	0,032	4,74	0,36
anguille	*muscle*	10	1,580	0,723	0,468	0,333	3,70	0,88
	branchies	10	0,114	0,053	0,017	0,011	7,04	1,43
	estomac	10	0,925	0,497	0,200	0,116	4,58	0,44
	intestin	10	0,526	0,411	0,118	0,096	4,54	0,26
	reins	10	0,209	0,134	0,042	0,033	5,39	0,94
	foie	10	0,287	0,177	0,071	0,049	4,09	0,57

2.4.5. Analyse des données

La normalité de la distribution des données ainsi que l'homogénéité des variances ont été testées respectivement par le test W de Shapiro-Wilk et le test de Cochran. Cependant, la distribution des données ne permettant pas de respecter les hypothèses des tests paramétriques, même transformées par la fonction f(x)=log(x+1), leur analyse statistique a été effectuée par l'emploi des tests non paramétriques. Ainsi, le test U de Wilcoxon-Mann-Whitney (W-M-W) a été utilisé dans le cas de la comparaison de deux échantillons indépendants. Dans le cas de la comparaison de plusieurs échantillons indépendants, l'ANOVA de Kruskal Wallis (K-W) a été suivie de la comparaison multiple des rangs moyens lorsqu'elle signalait une différence significative entre les échantillons. Pour le test W-M-W, la valeur critique de U est donnée avec la somme (n) des effectifs de chaque échantillon. Pour le test K-W, la valeur critique H est donnée d'après le nombre de degrés de liberté et l'effectif N de l'ensemble des échantillons. Les moyennes sont données avec les écart types sous la forme « moyenne±écart type ».

Chapitre 3
Enregistrements historiques de la contamination en Ag du système fluvio-estuarien de la Gironde

3.1. Introduction

L'estuaire de la Gironde (Fig. 3.1) subit une pollution polymétallique historique (e.g. Cd, Hg, Cu, As, Co, Ni, U, Mo, V ; Audry et al., 2004c; Castelle et al., 2007 ; Masson et al., 2006, 2007 ; Roux et Simonet, 1987 ; Schäfer et al., 2006) héritée de son passé minier et industriel dont la source est localisée principalement dans le bassin du Riou Mort d'une part (Blanc et al., 1999 ; Schäfer et Blanc, 2002), et de l'agriculture intensive d'autre part (e.g. As, Cu ; Masson et al., 2006 ; Michel et al., 2000). La pollution cadmifère découverte dans les années 1980 par le Réseau National d'Observation (RNO) de l'IFREMER (Boutier, 1981 ; Boutier et al., 1989 ; Claisse, 1989) a été mise en évidence par des concentrations en Cd élevées dans les huîtres de l'embouchure de la Gironde (Fig. 3.1 A). Ces concentrations atteignaient alors plus de 100 µg/g, poids sec (ps) soit des concentrations incompatibles avec la norme de consommation pour les bivalves marins de 10 µg/g, ps jusqu'en 2001 puis 5 µg/g, ps (CE N°466/2001). En conséquence, l'arrêté du 2 juillet 1996 (NOR : AGRG9501581A) a interdit la consommation des huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde qui a été classée en zone D par le décret n°94-340 du 28 avril 1994 (NOR : AGRG9400437D) et l'arrêté du 21 mai 1999 (NOR : AGRG9400437D)**,** désignant une zone dans laquelle les coquillages ne peuvent être récoltés ni pour la consommation humaine directe, ni pour le reparcage, ni pour la purification. L'arrêt de l'activité industrielle dans le bassin du Riou Mort et la baisse des émissions en Cd suite à la mise en place de moyens de remédiation et de gestion du système fluvial (Blanc et al., 1999 ; Bossy et al., 2010) ont permis de diminuer les apports de Cd à l'estuaire ainsi que les concentrations dans les huîtres (~25 µg Cd /g, ps en 2007 ; RNO/ROCCH, 2008). Cependant, la pollution par Cd a encore aujourd'hui un impact socio-économique important sur la conchyliculture régionale. A ce titre, les efforts d'observation, de recherche et de gestion liés à la pollution ont souvent été focalisés sur ce métal. Pourtant, le RNO a récemment révélé des concentrations anormalement élevées en Ag dans les bivalves prélevés à l'embouchure de deux des estuaires majeurs français, l'estuaire de Seine (jusqu'à 4,4 µg/g, ps dans les moules) et l'estuaire de la Gironde (jusqu'à 65 µg/g, ps dans les huîtres ; Chiffoleau et al., 2005). Sur la base de ces résultats et sachant que Ag est considéré comme un traceur des eaux urbaines (e.g. Sañudo-Wilhemy et Flegal, 1992), **comment expliquer les fortes concentrations de ce métal dans les huîtres de l'estuaire de la Gironde, qui, à l'inverse de l'estuaire de la Seine, draine un bassin versant faiblement industrialisé ?**

Le premier objectif de cette partie est de déterminer l'origine et l'historique de la contamination en Ag dans l'estuaire de la Gironde. Pour cela, les concentrations en Ag ont été étudiées à la lumière des connaissances acquises sur les émissions de Cd afin d'établir une relation entre leurs concentrations dans :

- les sédiments de retenues de barrage du Lot (Fig. 3.1 B) à Marcenac (bruit de fond géochimique) et à Cajarc, respectivement en amont et en aval de la confluence avec le Riou-Mort.
- les huîtres provenant de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde sur la période 1979-2007 (Fig. 3.1 A).

Les résultats de ces investigations sont discutés dans l'article 1 « Long-term (30 years) records and relationships of cadmium and silver contamination in oysters and sediment from the Gironde Fluvial-estuarine continuum » (cf 3.2).

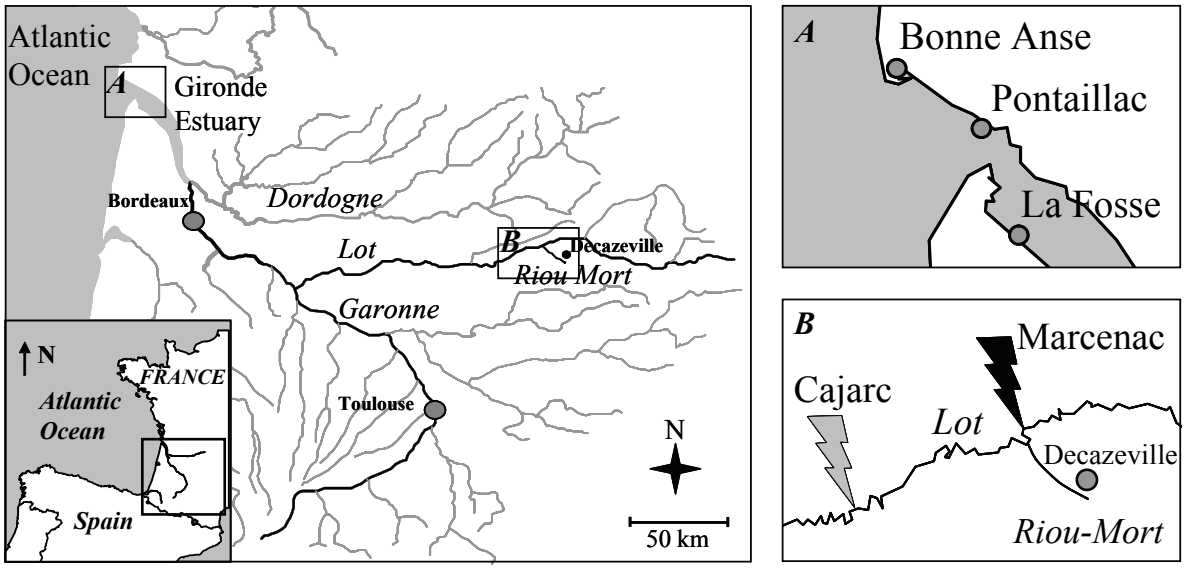

Figure 3.1. *Estuaire de la Gironde (SO France) avec A) les sites d'échantillonnage des huîtres par le RNO et B) les retenues de barrage où ont été prélevées les carottes sédimentaires.*

Le second objectif de ce chapitre est d'acquérir des connaissances sur la spéciation solide de Ag dans les sédiments afin de déterminer sa biodisponibilité ainsi que les mécanismes pouvant influencer sa remobilisation et modifier son transport (cf 3.3).

3.2. Article #1 :

Long-term (30 years) records and relationships of cadmium and silver contamination in sediment and oysters from the Gironde fluvial-estuarine continuum

Laurent Lanceleur[1], Jörg Schäfer[1*], Jean-François Chiffoleau[2], Gérard Blanc[1], Dominique Auger[2], Sophie Renault[3], Magalie Baudrimont[3], Stéphane Audry[4]

[1] Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Av. des Facultés, 33405 Talence Cedex, France.
[2] IFREMER Centre de Nantes, Département DCN/BE, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 3, France
[3] Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, 2 Rue du Professeur Jolyet, 33120 Arcachon Cedex, France
[4] Université de Toulouse, UPS (OMP), LMTG, 14 Av. Edouard Belin, 31400 Toulouse, France
*Corresponding author: phone: ++33 540002967; fax: ++33 556880848
j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

The Gironde fluvial estuarine system is impacted by historic polymetallic pollution (e.g. Cd, Zn, Hg) and it has been observed that oysters (*Crassostrea gigas*) from the estuary mouth show anomalously high Cd and Ag concentrations. We compared long-term (1979-2007) records of Ag and Cd concentrations in reservoir sediment with the respective concentrations in oysters to identify the origin and historical trend of the recently discovered Ag anomaly. Sediment cores from two reservoirs upstream and downstream from the main polymetallic pollution source provided information on (i) geochemical background (upstream; Ag: ~0.3 mg kg^{-1}; Cd: ~0.8 mg kg^{-1}) and (ii) historical trends in Ag and Cd pollution. Parallel concentration-depth profiles of Ag and Cd supported a common source and transport. Decreasing concentrations since 1986 (Cd: from 300 to 11 mg kg^{-1}; Ag: from 6.7 to 0.43 mg kg^{-1}) reflected the termination of industrial activities followed by remediation

actions. Accordingly, Cd concentrations in oysters decreased after 1988 (from ~90 to 30 mg kg^{-1}, dry weight (dw)), while Ag bioaccumulation increased from ~40 up to 100 mg kg^{-1}, dw after 1993. Based on the Cd/Ag ratio in oysters during the industrial period (Cd/Ag~2; 1981-1985) and assuming that nearly all Cd in oysters originated from the polymetallic point source, we estimated the respective contribution of Ag from this source to Ag concentrations in oysters. Results clearly suggested that unexplained Ag concentrations in oysters are due to increasing contributions (> 70 % after 1999) by other sources, such as photography, electronics and emerging Ag applications/materials.

Keywords: silver, cadmium, estuary, oyster, biomonitoring

1. Introduction

The Gironde Estuary (Fig. 1) is known for its polymetallic pollution since high Cd accumulation (> 100 µg g^{-1}, dry weight) in oysters (*Crassotreas gigas*) was discovered in the end of 1970s (e.g. Claisse, 1989) resulting in prohibition of consumption, production and purification of oysters since 1996 (Arrêté du 2 juillet 1996 NOR: AGRG9501581A). The main source of polymetallic pollution was coal mining and Zn-ore treatment in the Decazeville watershed, where the cessation of the metallurgical industry (1986) took place.

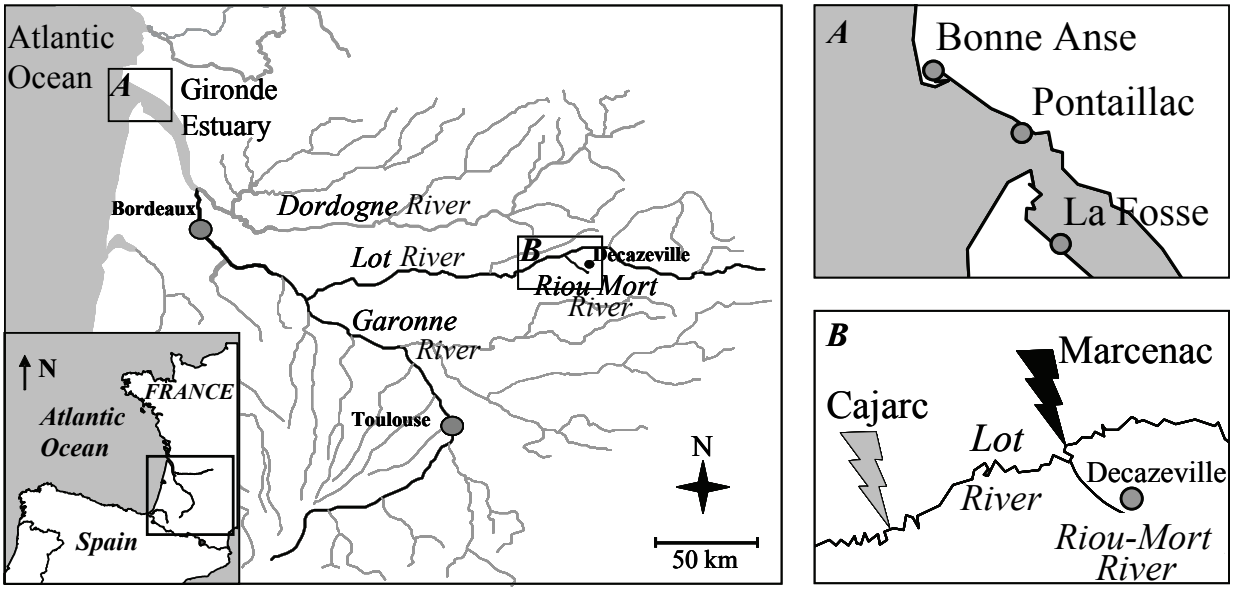

Figure 1: The Gironde Estuary (SW France) with sampling locations of A) oysters and B) sediment cores. The La Réole site, located at the upstream limit of tidal dynamics, is a

permanent observation site for trace element concentrations and fluxes at the main entry of the Gironde Estuary (for details see Schäfer et al., 2002).

Since then, remediation and pollution management have clearly reduced Cd emission (Audry et al., 2004b). Suspended particles are major pollutant vectors in rivers and accumulate in reservoirs, where the pollutants may be recycled (e.g. released to porewaters; Roulier et al., 2010) or stored over decades, providing sedimentary records of past pollutions (Audry et al., 2004b; Castelle et al., 2007; Valette-Silver, 1993). The hydroelectric reservoirs on the Lot River downstream from the Decazeville watershed contain important sediment stocks with high metal loads ($9.47 \pm 0.9\ 10^6$ m^3 of sediment containing approximately 200 t of Cd), that may be remobilized by floods, dredging and construction work (Audry et al., 2004a; Coynel et al., 2007). Although Cd has long been considered as the major pollutant, many other metals derived from the same source also show important anomalies in both sediment and water (e.g. Hg, Cu, Zn; Castelle et al., 2007; Schäfer et al., 2006). Both the regional geology and agricultural activities also contribute (e.g. As, Cu, Zn) to the trace element cocktail in the Gironde watershed (Masson et al., 2006, 2007). In 2003/2004, remarkably high Ag concentrations were recorded in wild oysters at the mouth of the Gironde Estuary. These levels were the highest measured in oysters along the French coast (Fig. 1A; Chiffoleau et al., 2005). Both Ag and Cd are highly toxic to aquatic organisms and may be easily bioaccumulated (Eisler, 1996; US EPA, 2001; Vijayavel et al., 2007), especially by oysters (e.g. Gunther et al., 1999; Ivanina et al., 2011; Reinfelder et al., 1997).

The present work aimed at documenting for the first time the historical Ag records in reservoir sediments upstream and downstream from the Decazeville watershed to (i) establish geochemical background for Ag in the upper Lot River watershed and (ii) quantify the extent of historical Ag contamination by the polymetallic point source (Fig 1B). Furthermore, we compare and discuss the chronologies of Cd and Ag accumulation in reservoir sediments and oysters from the Gironde watershed to understand (i) their relationships and (ii) changes over time in both levels and potential sources.

2. Materials and Methods

2.1. Study area

The Gironde Estuary (~170 km length; Fig. 1), draining a 80,000 km² watershed, is a major European estuary. Its mean annual freshwater discharge varies between 800 and 1000 $m^3\ s^{-1}$,

with typical water and particle residence times of ~20–90 days and ~1–2 years, respectively (Sottolichio and Castaing, 1999 and references therein). Suspended Particulate Matter (SPM) concentrations in its well developed Maximum Turbidity Zone (MTZ) frequently exceed 1 g L^{-1}, making the Gironde Estuary one of the most turbid estuaries in Europe. A high number of studies on physical, hydrological and geochemical characteristics of the Gironde Estuary and its watershed (e.g. polymetallic pollution) make it a model estuary, especially for understanding trace element transport and reactivity in impacted watersheds and macrotidal estuaries (e.g. Schäfer et al., 2002; Sottolichio and Castaing, 1999).

The main source of the historical polymetallic pollution is located in the upper Lot River watershed, where a small tributary (i.e. the Riou Mort River) drains a waste area of a former zinc ore manufacturing facility (1842 to 1987) in the Decazeville basin (Fig. 1B). The metallurgical activity ended after a major pollution accident in 1986 followed by ongoing remediation efforts such as the treatment of drainage water and the confinement of a part of the waste deposits in storage basins (1987). However, the major part of the metallurgical waste is still exposed to atmospheric agents, i.e. leaching and erosion continue (Audry et al., 2004b, and references therein).

2.2. Core retrieval

Reservoir sediments usually accumulate at high rates (typically > 2 cm y^{-1}; e.g. Müller et al., 2000, Audry et al., 2004b) and consequently are considered as being little affected by early diagenesis processes, i.e. providing preserved records of historical inputs (Callender, 2000). In June 2001, sediment cores (0–140 cm depth) were collected in two hydroelectric reservoirs on the Lot River, upstream (Marcenac) and downstream (Cajarc) from the pollution source (Fig. 1B) as described elsewhere (Audry et al., 2004b). Briefly, horizontal sections of the cores were sliced, dried at 50°C to constant weight, powdered and homogenized with an agate mortar and stored in the dark awaiting analyses. The Cajarc core was ^{137}Cs-dated using a low background noise γ-ray spectrometer with Ge detector (Intertechnique EGSP 2200–25; Audry et al., 2004b).

2.3. Bioindicator sampling

As suspension-feeding bivalves, oysters are exposed to both dissolved metals and metals bound to mineral particles, phytoplankton and organic matter. Their capacity to accumulate both Ag and Cd from their environment (e.g. Baudrimont et al., 2005; Gunther et al., 1999) makes them good bioaccumulators for monitoring studies. Within the National Network for

the Observation of Marine Environment Quality (RNO/ ROCCH; i.e. the French Mussel-Watch; http://www.ifremer.fr/deltn/pages/rno.htm), 3-year old wild-growing Japanese oysters (*Crassostrea gigas*) were collected according to the guidelines for monitoring contaminants in biota defined by the OSPAR commission (http://www.ospar.org) at three sites at the mouth of the Gironde Estuary (Fig. 1A) four times a year during 1979-2002 and twice a year from 2003 to 2007 on (February and November). The sampling sites are representative of different salinity (S) ranges. Typical salinity levels are 25 to 30 at the Bonne Anse site, 20 to 25 at the Pontaillac site and 15 to 20 at the La Fosse site.

2.4. Analyses

All the labware used was acid cleaned (HNO_3 analytical grade; 10 %; 72 h), thoroughly rinsed with Milli-Q water, dried under a laminar flow hood and stored in double sealed polyethylene bags prior to use. For the determination of total trace element concentrations in reservoir sediments, representative sub-samples (30 mg of dry, powdered and homogenized material) were digested in acid-cleaned PP-tubes (DigiTUBEs®, SCP SCIENCE) using 1.5 mL HCl (12 M, Plasmapur), 0.5 mL HNO_3 (14 M, Plasmapur) and 2 mL HF (26 M, Plasmapur) at 110°C for 2 h in a temperature-controlled digestion system (DigiPREP MS®, SCP SCIENCE). After complete cooling, the digestate was evaporated to dryness, then the residue was dissolved using 150 µL HNO_3 (12 M, Plasmapur), brought to 10 mL with double deionized Milli-Q water and stored in the dark at 4°C awaiting analysis (adapted from Audry et al., 2004a and Schäfer and Blanc, 2002). Cadmium and Ag bioaccumulation in oysters was measured from aliquots (200 mg) of freeze-dried samples digested at 90°C with HNO_3 for Cd and a mixture of HNO_3 and HCl for Ag as described elsewhere (Chiffoleau et al., 2005).

Cadmium and Ag concentrations in the sediment digestates were measured by ICP-MS (X7, Thermo-Fisher) at EPOC, Bordeaux 1 University. Precision, evaluated from parallel analyses of international certified reference materials (NCS-DC-70317, NCS-DC-70311), was < 5 % (rsd) and results were consistently within the certified ranges.

Cadmium and Ag concentrations in oyster digestates were determined at Ifremer, Centre de Nantes by graphite furnace atomic absorption spectrometry (AA800, Varian) using the Zeeman background correction for non-specific absorption. Quality control was satisfactorily performed by analyses of CRM (CRM TORT-2, CRM DOLT-2, SRM 1566b; Chiffoleau et al., 2005) and through regularly successful participations in QUASIMEME (Quality Assurance of Information for Marine Environmental Monitoring in Europe) intercalibration excercises.

Flux estimates of particulate Cd and Ag gross fluxes (fluvial fluxes into the estuary) at the La Réole site, i.e. the main fluvial entry of the Gironde Estuary were performed from daily discharge and SPM (suspended particulate matter) data and monthly measured metal concentrations using commonly applied methods described in detail elsewhere (e.g. Audry et al., 2004a; Masson et al., 2007; Schäfer et al. 2002). The particulate Ag fluxes for the 1990-1998 period (no Ag data available) were estimated from the SPM fluxes (Schäfer et al., 2002) and using a particulate Ag concentration of 1.0 mg kg^{-1}, i.e. the mean particulate Ag concentration measured during the last decade at the La Réole site (Lanceleur et al., in press).

3. Results

3.1. Ag and Cd concentrations in sediment cores

At the Marcenac site, which served as a reference site for the geochemical background of the upper Lot River watershed (Audry et al., 2004b), concentrations (mean±SD) were low and rather constant, i.e. 0.31±0.06 mg kg^{-1} for Ag and 0.77±0.22 mg kg^{-1} for Cd (Fig. 2).

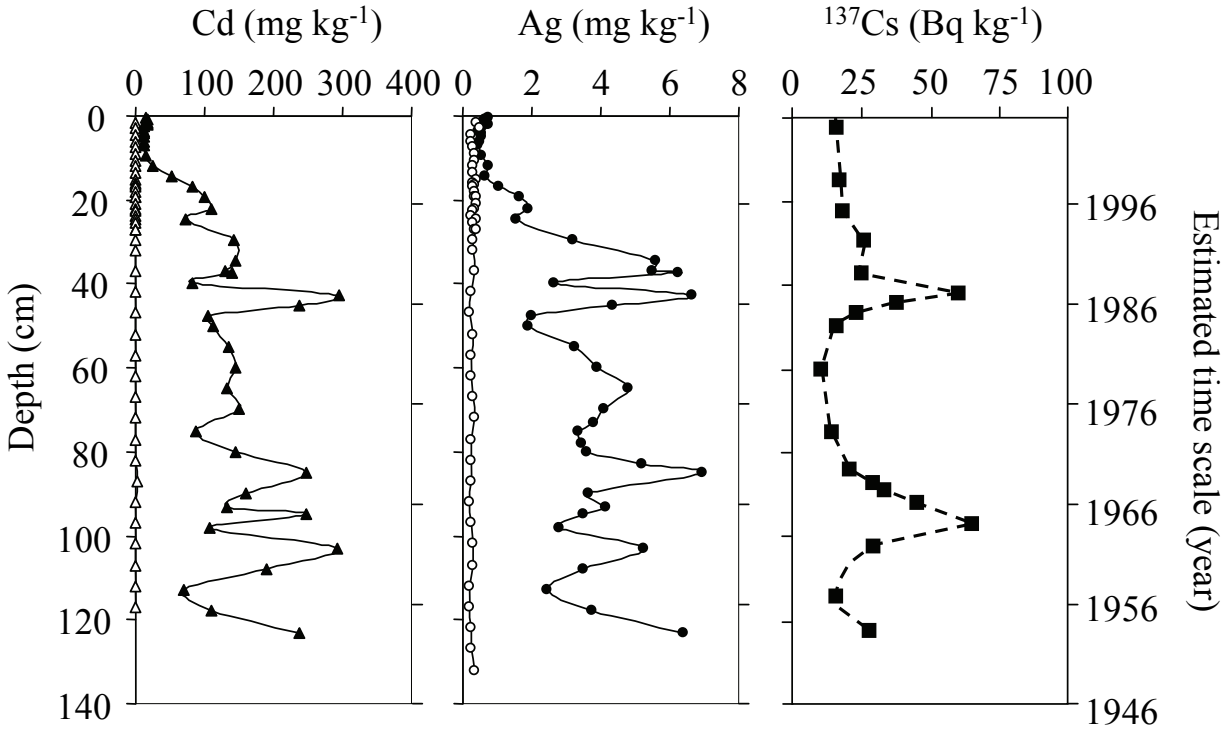

Figure 2: Cadmium concentrations, Ag concentrations and ^{137}Cs activity vs depth for the sediment cores from the Marcenac (geochemical background; empty symbols) and the Cajarc (historical record of metallurgical pollution; filled symbols) sites. Cadmium and ^{137}Cs profiles are from Audry et al. (2004b).

In the Cajarc sediment, Ag concentrations ranged from 0.43 to 6.96 mg kg^{-1} and were correlated with Cd concentrations ($R_{Spearman}$=0.90; n=43; $p < 0.01$). Concentrations of both Ag and Cd decreased from the 42 cm depth to the surface (Cd: from 300 to 11 mg kg^{-1}; Ag: from 6.7 to 0.43 mg kg^{-1}), corresponding to the 1986-2001 period according to ^{137}Cs datation (Fig. 2). Normalization of metal concentrations by Sc presented in previous work showed that grain size variations had a negligible impact on the historical metal record (Audry et al., 2004b).

3.2. Ag and Cd concentrations in oysters

Total element concentrations in oysters undergo seasonal variations due to weight gains and losses during the reproduction cycle (Páez-Osuna et al., 1995). In order to limit scattering induced by seasonal environmental parameters on oyster life cycles, Figs. 3A and 3B show sliding means (n=4 for the 1979-2002 period and n=2 for the 2003-2007 period) of Ag and Cd concentrations expressed as mg kg^{-1} dry weight (dw) of oyster tissue. Oysters from the La Fosse site (the most upstream site) showed systematically higher concentrations in both Cd and Ag, while the lowest concentrations occurred at the Bonne Anse site (Figs. 3A and 3B). Sliding means of Cd concentrations in oysters at the La Fosse site decreased after 1988 from ~90 to 30 mg kg^{-1}, dw, while Ag bioaccumulation increased from ~40 to ~100 mg kg^{-1}, dw, after 1993 (Figs. 3A and 3B). Although clearly lower, the Cd and Ag levels at the other sites showed similar trends.

The Cd and Ag levels (mean±SD of original values) at the Pontaillac and the Bonne Anse sites were respectively equivalent to 58±19 % for Cd and 83±30 % for Ag and 31±12 % for Cd and 39±21 % for Ag of those of the La Fosse site.

4. Discussion

4.1. Geochemical background and historical record of Cd and Ag in river sediment

The historical metal records in the Cajarc sediments closely reflect the evolution of the industrial activity of the source area from the 1950's to present, including the stop of the Zn extraction in 1986 and subsequent remediation (Audry et al., 2004b; Castelle et al. 2007). The geochemical background values of the upstream Lot River watershed estimated from the Marcenac values (Cd: 0.77 mg kg^{-1}; and Ag: 0.30 mg kg^{-1}) were 15 to 384 and 1.4 to 23 times lower, respectively, than Ag and Cd concentrations at the contaminated Cajarc site.

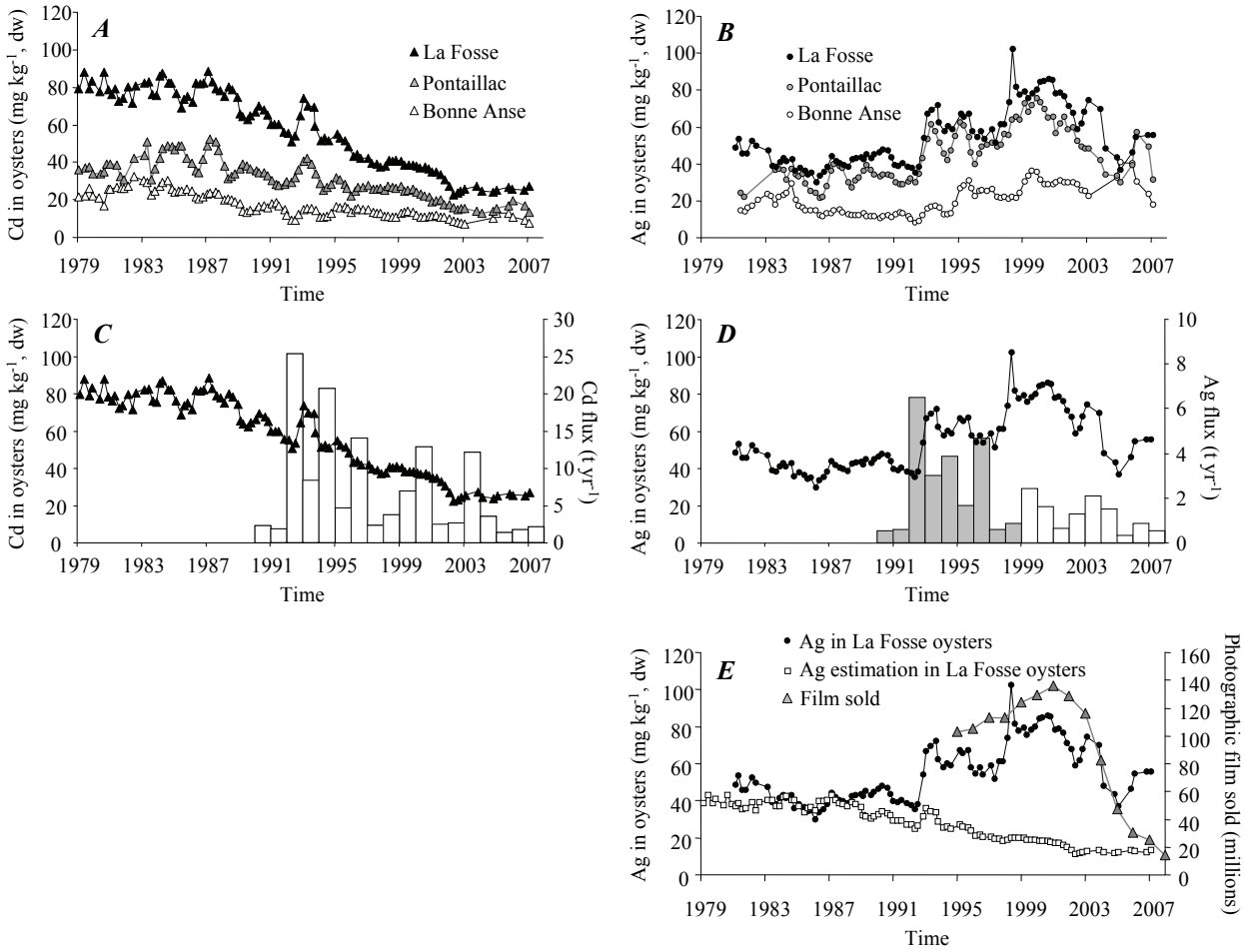

Figure 3: Sliding means (n=4 for the 1979-2002 and n=2 for the 2003-2007 periods) of Cd (A and C) and Ag (B, D and E) concentrations in oysters from the La Fosse (A,B,C,D and E), Pontaillac (A and B) and Bonne Anse (A and B) sites during 1979-2007. Particulate Cd (C; white bars) and Ag (D; white and grey bars) gross fluxes at the La Réole site over time. Particulate Cd gross fluxes in 1990-1999 are from Schäfer et al. (2002), Audry et al. (2004a) for 2000, Masson et al. (2006) for 2001-2002 and from Dabrin et al. (2009) for 2003-2007. The grey bars represent estimated particulate Ag gross fluxes at the La Réole site in 1990-1998. Particulate Ag fluxes in 1999-2007 are from Lanceleur et al. (in press). (E): Ag concentrations in oysters and photographic film sold in France vs time. Ag levels were measured (full circles) and estimated (open squares) from pre-1986 Cd/Ag ratio and from Cd concentrations in oysters.

Co-evolution of Cd and Ag concentration-depth profiles supports common source and transport, suggesting that the Decazeville basin formerly was an important Ag source to the Lot-Garonne-Gironde fluvial estuarine continuum (Fig. 2). The observed Ag levels in the Lot

River sediments were similar in magnitude to those reported for polluted English estuaries (up to 5 mg kg^{-1} with 0.1 mg kg^{-1} as the background concentration; Bryan, 1984).

Metal stocks in contaminated sediments are of great concern in many aquatic systems at the global scale as they could be remobilised during floods (e.g. Coynel et al., 2007), dredging (e.g. Audry et al., 2004a), passive diffusion at the water–sediment interface, (e.g. Rivera-Duarte and Flegal, 1997; Van Den Berg et al., 1999) or bioturbation (e.g. Zoumis et al., 2001).

4.2. Bioavailability of Cd and Ag to oysters

The concentration gradient of Cd and Ag in oysters from the La Fosse site to the Bonne Anse site, i.e. decreasing levels from upstream to downstream, could be explained by differences in exposure. Direct exposure of oysters to dissolved metals results in direct uptake (direct pathway) and is considered the major contamination pathway for both Cd (e.g. Ettajani et al., 2001) and Ag (e.g. Abbe and Sanders, 1990). In estuarine salinity gradients, both dissolved Cd and Ag typically show highest levels in the 15-20 salinity range (e.g. Dabrin et al., 2009; Tappin et al., 2010) due to desorption from the particulate phase by chloride-complexation (e.g. Luoma et al., 1995; Turner et al., 1993). Fluvial Cd and Ag transport into the Gironde Estuary mainly occurs in the particulate phase (respectively ~80 % and ~95 %; Lanceleur et al., in press; Schäfer et al., 2002). Their addition to the dissolved phase results in the typical 'bell-shaped' distribution of dissolved Cd and Ag along the estuarine salinity gradient which may induce systematic spatial differences in oyster exposure with decreasing levels from the La Fosse to the Bonne Anse site (Fig. 1 and 3). In fact, both dissolved Cd and Ag concentrations decrease towards the seaward end due to dilution by oceanic water (Atlantic Ocean: Cd_D= 4±3 ng L^{-1}; Kremling, 1985; North Atlantic Ocean: Ag_D=0.39 ng L^{-1}; Rivera-Duarte et al., 1999).

During the whole observed period, Cd concentrations in oysters from the Pontaillac site were equivalent to 58±19 % of those in La Fosse oysters, compared to 83±30 % for Ag. This significant difference ($p < 0.001$; Log transformation of data followed by a one-way ANOVA) supports relatively higher Ag accumulation at Pontaillac (i.e. at higher salinity) in comparison with Cd accumulation. In the same manner, the relative Ag accumulation at Bonne Anse (39±21 %) was significantly higher ($p < 0.001$) than those of Cd (31±12 %). Further work is necessary to understand if this difference is due to (i) differences in the slopes of Cd and Ag distribution in the high salinity range, i.e. the fact that maximum Ag release from particles occurs at higher salinities than for Cd as it was shown experimentally (Ciffroy

et al., 2003) and/or (ii) different assimilation efficiencies for Cd and Ag species. In fact, compared to Cd, data on dissolved Ag distribution and speciation along estuarine salinity gradients are extremely scarce, i.e. inexistent for most estuaries. From recent maximum dissolved Cd (170 ng L^{-1}) and Ag (8 ng L^{-1}) concentrations in the Gironde Estuary salinity gradient (S=15-20; Dabrin et al., 2009; Lanceleur et al., unpublished) and the respective levels in oysters from the La Fosse site (Cd: 25 mg kg^{-1}, dw; Ag: 50 mg kg^{-1}, dw), we estimated minimum bioaccumulation factors (concentration in oysters/concentration in water) at 0.15 10^6 for Cd and 6.25 10^6 for Ag. This suggests that in the Gironde Estuary oysters bioaccumulation factors are ~40 times higher for Ag than for Cd. These results are consistent with previous experimental work showing that even if assimilation efficiency by trophic transfer in oysters is higher for Cd (*C. virginica*) than for Ag (Reinfelder et al., 1997), Ag-chlorocomplexes play an important role in Ag accumulation via the direct pathway by oysters compared to Cd (Engel et al., 1981), making Ag the strongest accumulated trace metal for certain marine bivalves (e.g. Luoma et al., 1995).

4.3. Comparison of particulate Cd and Ag fluvial gross fluxes into the Gironde Estuary with Cd and Ag accumulation in oysters

The Garonne River (the La Réole site; Fig. 1) is the main fluvial entry of particles and associated metals transported into the Gironde Estuary with > 80 % (Cd; Schäfer et al., 2002) and ~96 % (Ag; Lanceleur et al., in press) of the fluvial gross fluxes occurring in the particulate phase. The evolution over time of Cd and Ag gross fluxes into the Gironde Estuary reflects (i) decreasing emissions by in the source area (i.e. the Decazeville watershed) and (ii) the hydrological variability (e.g. Schäfer et al., 2002). Accordingly, Cd particulate gross fluxes at the La Réole site globally decreased by a factor of ~10 from 25 to 2.2 t y^{-1} over the last two decades and may explain the parallel decrease in Cd concentrations in La Fosse oysters (from 70 to 25 mg kg^{-1}, dw; Fig. 3C). As for Cd, the estimated particulate Ag gross fluxes tended to decrease during 1992-2007 by a factor of ~10, i.e. from 6.5 to 0.5 t y^{-1}. In contrast to Cd, Ag concentrations in oysters were at maximum during 1998-2003 and their evolution over time did not reflect that of the estimated Ag gross fluxes (Fig. 3D). This suggests that after 1993 the fluvial Ag gross fluxes cannot explain the evolution of Ag bioaccumulation in oysters.

4.4. Historical trend of Ag and Cd pollution

Based on the observation that the Cd/Ag ratio in oysters from the La Fosse site was constant during the industrial period (Cd/Ag=2±0.4; 1981-1985) and assuming that during the whole observation period nearly all Cd in oysters was derived from the polymetallic point source, we estimated the respective (theoretical) Ag concentrations in oysters over time (Fig. 3E).

Comparing the estimated theoretical Ag levels to the measured data suggests that before ~1993, Ag in the oysters from La Fosse was mostly derived from the Decazeville basin. In contrast, increasing Ag concentrations after 1993 were attributed to increasing contributions (> 70 % after 1999) by other sources. While soil erosion is the main natural Ag source to rivers, there are various anthropogenic Ag sources such as coal combustion, smelting, photography manufacturing and development, urban runoff, sewage treatment plants, cloud seeding and electrical supplies, etc. (e.g. Lanceleur et al., in press; Purcell and Peters, 1998; US PHS, 1990). In 1986, photography accounted for 45 % of Ag demand in the United States (US PHS 1990) and greatly contributed to the Ag contamination of San Francisco Bay sediment, water and biota until the mid 1980s (Flegal et al., 2007). In France, photographic film sells increased from 103 to 136 million in 1995-2001 and decreased to 24 million in 2007 (9 million in 2009) due to the development of numeric photography (Fig. 3E; OPI). Even if Ag load in oysters from the La Fosse site apparently followed this trend during 1995-2005, concentrations tended to increase after 2005 (Fig. 3E). Future work should aim at quantifying the contribution of recent increases in argentic paper sells (+21 % between 2006 and 2007; OPI), electronic products and emerging sources, e.g. growing use of Ag nanoparticles.

Conclusion

The Lot River sediments at the Cajarc site downstream from the Decazeville watershed showed anomalously high Cd and Ag concentrations, up to 384 and 23 times higher than the respective regional background levels of 0.77 mg kg^{-1} (Cd) and 0.30 mg kg^{-1} (Ag). The concentration-depth profiles reflect historical pollution due to former ore mining and ore treatment since the 1950s, followed by decreasing concentrations since the end of the metallurgical activity in 1986. The historical records in sediments and the evolution of fluvial particulate Cd gross fluxes, i.e. fluvial fluxes into the Gironde Estuary fully explain the decreasing Cd concentrations in oysters. The observed gradient in Cd and Ag levels in oysters from the three sites near the estuary mouth probably reflect exposure to dissolved Cd and Ag concentrations, i.e. their typical distribution along the estuarine salinity gradient. In contrast,

neither the historical Ag record in river sediments nor the fluvial particulate Ag gross fluxes can explain the recent increase in Ag levels in oysters from the estuary mouth, clearly suggesting increasing contributions (> 70 % after 1999) by other, probably intra-estuarine sources. Further work is necessary to identify these sources and to understand their role in the estuarine Ag cycle and in Ag contamination of aquatic organisms.

Acknowledgements

This work was supported by the French National Research Agency ANR « Vulnérabilité, Milieu et Climat » (ANR-07-VULN-003), the Agence de l'Eau Adour-Garonne and the « Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer ».

References

Abbe, G.R., Sanders, J.G., 1990. Pathways of silver uptake and accumulation by the American oyster (*Crassostrea virginica*) in Chesapeake Bay. Estuar. Coast. Shelf Sci. 31, 113–123.

Arrêté du 2 juillet 1996, 1996. Arrêté du 2 juillet 1996 fixant les critères sanitaires auxquels doivent satisfaire les coquillages vivants destinés à la consommation humaine immédiate. NOR: AGRG9501581A. JORF 167, 10967.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004a. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot–Garonne fluvial system (France). Appl. Geochem. 19, 769–86.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.-M., 2004b. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). Environ. Pollut. 132, 413–26.

Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., 2005. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). Sci. Total Environ. 337, 265–280.

Bryan, G.W., 1984. Pollution due to heavy metals and their compounds. In: Kinne, O. (Ed.). Marine ecology: a comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal waters: 5. Ocean management: 3. Pollution and protection of the seas, radioactive materials, heavy metals and oil. John Wiley and Sons Ltd, New York, USA, pp. 1289–1431.

Callender, E., 2000. Geochemical effects of rapid sedimentation in aquatic systems: minimal diagenesis and the preservation of historical metal signatures. J. Paleolimnol. 23, 243–260.

Castelle, S., Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Etcheber, H., Lissalde, J.-P., 2007. 50-year record and solid state speciation of mercury in natural and contaminated

reservoir sediment. Appl. Geochem. 22, 1359–1370.

Chiffoleau, J.-F., Auger, D., Roux, N., Rozuel, E., Santini, A., 2005. Distribution of silver in mussels and oysters along the French coasts: Data from the national monitoring program. Mar. Pollut. Bull. 50, 1719–1723.

Ciffroy, P., Garnier, J.-M., Benyahya, L., 2003. Kinetic partitioning of Co, Mn, Cs, Fe, Ag, Zn and Cd in fresh waters (Loire) mixed with brackish waters (Loire estuary): experimental and modelling approaches. Mar. Pollut. Bull. 46, 626–641.

Claisse, D., 1989. Chemical contamination of French coasts. The results of a ten years mussel watch. Mar. Pollut. Bull. 20, 523–528.

Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. Appl. Geochem. 22, 821–836.

Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coynel, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 84, 429-439.

Eisler, R., 1996. Silver hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Contaminant Hazard Reviews, Report No.32.

Engel, D.W., Sunda, W.G., Fowler, B.A., 1981. Factors affecting trace metal uptake and toxicity to estuarine organisms. In: Vernberg, F., Calabrese, A., Thurberg, F.P., Vernberg, W.B. (Eds.). Environmental parameters: Biological Monitoring of Marine Pollutants. New York, USA, pp. 127–144.

Ettajani, H.,Berthet, B., Amiard, J.C, Chevolot, L., 2001. Determination of Cadmium Partitioning in Microalgae and Oysters: Contribution to the Assessment of Trophic Transfer. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40, 209–221.

Flegal, A.R., Brown, C.L., Squire, S., Ross, J.R.M., Scelfo, G.M., Hibdon, S., 2007. Spatial and temporal variations in silver contamination and toxicity in San Francisco Bay. Environ. Res. 105, 34–52.

Gunther, A.J., Davis, J.A., Hardin, D.D., Gold, J., Bell, D., Crick, J.R., Scelfo, G.M., Sericano, J., Stephenson, M., 1999. Long-term bioaccumulation monitoring with transplanted bivalves in the San Francisco Estuary. Mar. Pollut. Bull. 38, 170–181.

Kremling, K., 1985. The distribution of cadmium, copper, nickel, manganese, and aluminium in surface waters of the open Atlantic and European shelf area. Deep-Sea Res. 32, 531–555.

Ivanina, A.V., Froelich, B., Williams, T., Sokolov, E.P., Oliver, J.D., Sokolova, I.M., 2011. Interactive effects of cadmium and hypoxia on metabolic responses and bacterial loads of eastern oysters *Crassostrea virginica* Gmelin. Chemosphere 82, 377–389.

Lanceleur, L., Schäfer, J., Bossy, C., Coynel, A., Larrose, A., Masson, M., Blanc, G.. Silver fluxes to the Gironde Estuary - Eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale. Appl. Geochem. in press.

Luoma, S.N., Ho, Y.B., Bryan, G.W., 1995. Fate, bioavailability and toxicity of Ag in estuarine environments. Mar. Pollut. Bull. 31, 44–54.

Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary *via* its major tributaries. Sci. Total Environ. 370, 133–146.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Anschutz, P., 2007. Seasonal variations and annual fluxes of arsenic in the Garonne, Dordogne and Isle Rivers, France. Sci. Total Environ. 373, 196-207.

Müller, J., Ruppert, H., Muramatsu, Y., Schneider, J., 2000. Reservoir sediments - a witness of mining and industrial development (Malter Reservoir, eastern Erzgebirge, Germany). Environ. Geol. 39, 1341–1351.

OPI, Observatoire des Professions de l'Image (acceded in July 2010). Available at: http://www.sipec.org/statistiques.php?PAGE=statistiques

Páez-Osuna, F., Frias-Espericueta, M.G., Osuna-Lopez, J.I., 1995. Trace metal concentrations in relation to season and gonadal maturation in the oyster *Crassostrea iridescens*. Mar. Environ. Res. 40, 19–31.

Purcell, T.W., Peters, J.J., 1998. Sources of silver in the environment. Environ. Toxicol. Chem. 17, 539–546.

Reinfelder, J.R., Wang, W.-X., Luoma, S.N., Fisher, N.S., 1997. Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: a comparison of oysters, clams, and mussels. Mar. Biol. 129, 443–452.

Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., 1997. Pore-water silver concentration gradients and benthic fluxes from contaminated sediments of San Francisco Bay, California, U.S.A., Mar. Chem. 56, 15–26.

Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., Sañudo-Wilhelmy, S.A., Véron, A.J., 1999. Silver in the far North Atlantic Ocean. Deep-Sea Res. Pt II 46, 979–990.

Roulier, J.-L., Belaud, S., Coquery, M., 2010. Comparison of dynamic mobilization of Co, Cd and Pb in sediments using DGT and metal mobility assessed by sequential extraction. Chemosphere 79, 839–843.

Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. Sci. Total Environ. 298, 103–118.

Schäfer, J.**,** Blanc, G., Audry, S, Cossa, D, Bossy, C., 2006. Mercury in the Lot-Garonne River system (France): Sources, fluxes and anthropogenic component. Appl. Geochem. 21, 515–527.

Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year-observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. Mar. Chem. 79, 229–242.

Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly concentrated structures in the Gironde Estuary. C.R. Acad. Sci. II 329, 795–800.

Tappin, A.D., Barriada, J.L., Braungardt, C.B., Evans, E.H., Patey, M.D., Achterberg, E.P., 2010. Dissolved silver in European estuarine and coastal waters. Water Res. 44, 4204–4216.

Turner, A., Millward, G.E., Bale, A.J., Morris, A.W., 1993. Application of the KD concept to the study of trace metal removal and desorption during estuarine mixing. Estuar. Coast. Shelf Sci. 36, 1–13.

US EPA, 2001. Update of Ambient Water Quality Criteria for Cadmium 822-R-01-001. U.S. Environmental Protection Agency, Washington.

US PHS, 1990. Toxicological profile for silver. U.S. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.

Valette-Silver, N.J., 1993. The Use of Sediment Cores to Reconstruct Historical Trends in Contamination of Estuarine and Coastal Sediments. Estuaries 16, 577–588.

Van Den Berg, G.A., Loch, J.P.G., Van Der Heijdt, L.M., Zwolsman, J.J.G., 1999. Mobilisation of heavy metals in contaminated sediments in the river Meuse, The Netherlands. Water Air Soil Pollut. 166, 567–586.

Vijayavel, K., Gopalakrishnan, S., Balasubramanian, M.P., 2007. Sublethal effect of silver and chromium in the green mussel *Perna viridis* with reference to alterations in oxygen uptake, filtration rate and membrane bound ATPase system as biomarkers. Chemosphere 69, 979–986.

Zoumis, T., Schmidt, A., Grigorova, L., Calmano, W., 2001. Contaminants in sediments: remobilisation and demobilisation. Sci. Total Environ. 266, 195–202.

3.3. Spéciation de Ag dans les sédiments de barrage du Lot

L'objectif est de déterminer la spéciation solide de Ag dans les sédiments du Lot impactés par les rejets industriels et miniers passés, afin d'en estimer le potentiel de remobilisation.

L'attaque totale réalisée sur les échantillons de la carotte prélevée à Cajarc a révélé des concentrations en Ag comprises entre 0,4 et 7,0 mg/kg, avec un dernier maximum de concentration en 1986 (Fig. 3.2). Ce maximum correspond à un rejet accidentel suite à la rupture de la canalisation du bassin de décantation des eaux de lessivage des terrils sur le bassin de Decazeville (Jozereau, 1997).

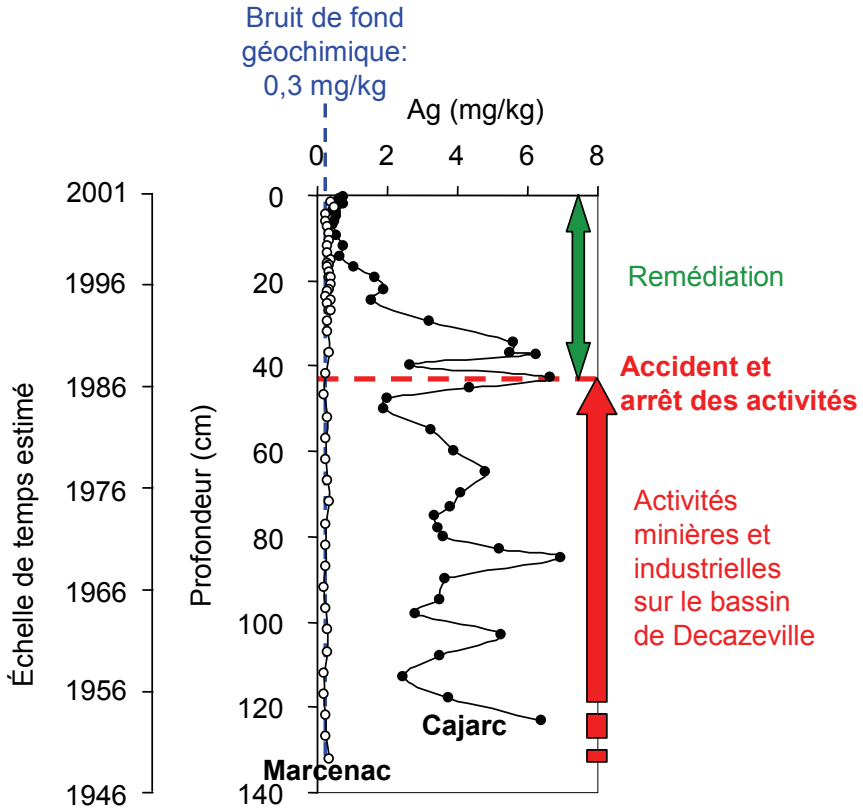

Figure 3.2. *Enregistrement historique des concentrations en Ag en aval (Cajarc) de la source de pollution polymétallique du bassin de Decazeville. Le bruit de fond géochimique correspond au profil sédimentaire des concentrations mesurées dans une carotte réalisée en amont de la source polymétallique (Marcenac). L'échelle de temps est déterminée par datation au ^{137}Cs (Audry et al., 2004c).*

Cette pollution a conduit à l'arrêt de la production de Zn en 1987. Depuis cette date, l'arrêt des émissions et les moyens de remédiation mis en œuvre (traitement des eaux de nappes et confinement des terrils par recouvrement d'argile) ont permis la diminution des rejets en Ag dont témoignent les concentrations décroissantes dans la carotte de Cajarc.

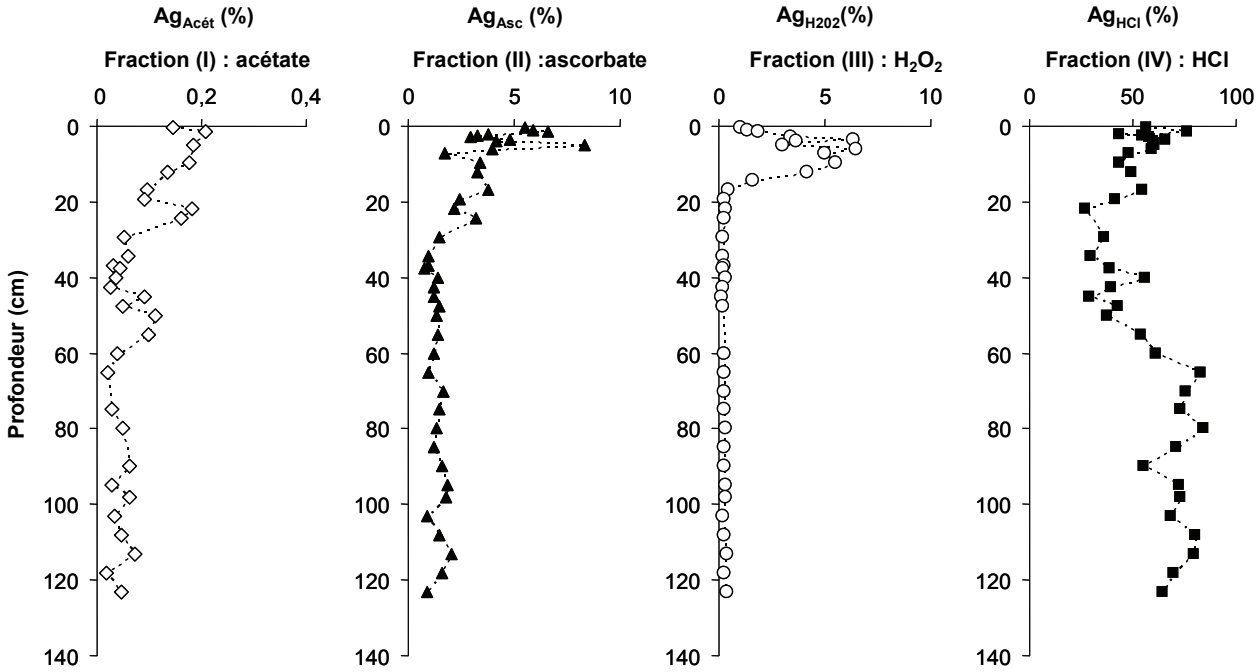

Figure 3.3. *Contribution (en %) de chaque fraction extraite sélectivement aux concentrations en Ag_{total} déterminées par attaque totale des sédiments de Cajarc en fonction de la profondeur.*

L'analyse des concentrations en Ag des différentes fractions extraites sélectivement et en parallèle, telles qu'elles sont définies par Audry (2003), a permis d'estimer leurs contributions aux concentrations totales (Fig. 3.3). Ainsi :

- La fraction (I) « carbonate » ou « échangeable à pH 5 », extraite par NaOAc/HOAc, est négligeable car elle représente moins de 0,2% de la concentration totale en Ag.

- La fraction (II), réductible et composée d'« oxyhydroxydes de Fe et Mn réactifs », est extraite par ascorbate (pH = 8). Elle représente moins de 9%. Le pourcentage de Ag extrait dans cette fraction diminue dans les premiers 20 cm. Cette diminution peut être attribuée à la réduction des oxydes de Mn et Fe par voie bactérienne lors de la dégradation anaérobie de la matière organique suivant la diagénèse précoce étudiée dans cette carotte (Audry 2003 ; Audry et al., 2010).

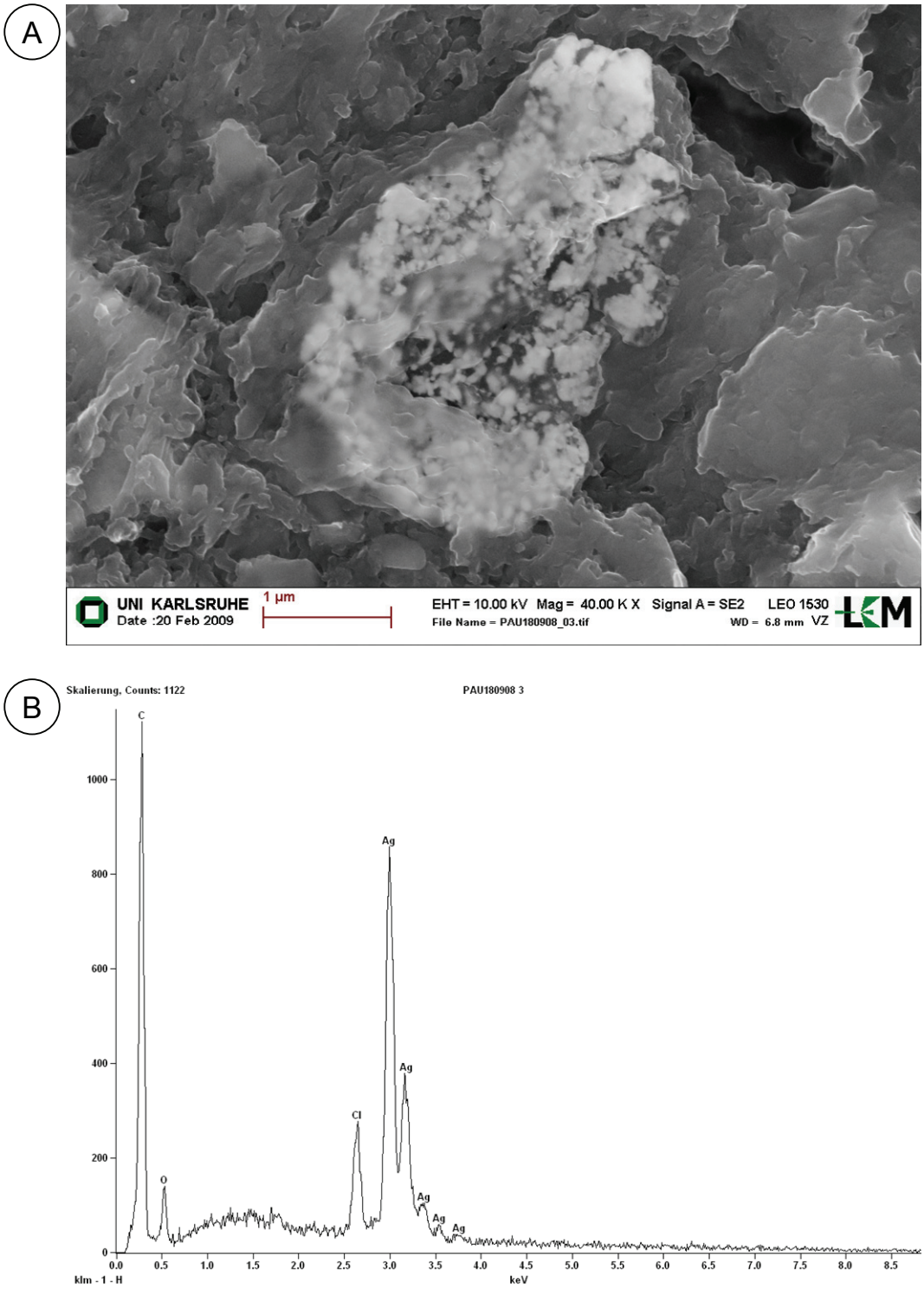

Figure 3.4. *Photographie par microscopie électronique à balayage (SEM ; A) et spectre de l'analyse dispersive en énergie (EDX ; B) d'une argile recouverte en partie de matière organique et probablement de chlorocomplexes de Ag. Cette particule provient d'un échantillonnage de MES à Pauillac le 18/09/2008. Son analyse a été réalisée en collaboration avec l'université de Karlsruhe dans le cadre d'un stage de Master 2 franco-allemand.*

- La fraction (III) « matière organique et sulfures », extraite par H_2O_2, représente moins de 7%. Ce maximum est atteint dans les premiers 20 cm sous la surface et correspond à un maximum des concentrations de Ag extrait dans la fraction (III) plutôt qu'à une augmentation des concentrations totales. Ceci est donc attribué à un changement de phase porteuse. A cette profondeur, les conditions sont favorables à la précipitation authigénique de sulfures métalliques tels que Cd, Zn, Cu et Pb libérés dans la phase dissoute suite à la dégradation de la MO et la déstabilisation des oxydes de Fe et Mn (Audry, 2003). Dans le cadre d'une collaboration avec l'université de Karlsruhe lors de l'encadrement d'une étudiante de Master 2 (Sabine Dorn), l'analyse de MES par microscopie électronique à balayage (SEM ; Fig. 3.4 A) et son spectre d'analyse dispersive en énergie (EDX ; Fig. 3.4 B) a permis de mettre en évidence un lien entre la MO particulaire et des chlorocomplexes de Ag.

- La fraction (IV) hydrosoluble et potentiellement biodisponible (Bryan et Langston, 1992 ; Langston et al., 1999), extraite par HCl (1 M), représente 27 à 84% de la teneur totale en Ag. Elle est en moyenne la fraction majoritaire avec 58±16% de la concentration totale en Ag.

Par conséquent, la phase porteuse de Ag non résiduel (extrait par la fraction (IV)) est donc constituée principalement de minéraux argileux. En surface (0 à 42 cm ; ~1986 à 2001), les oxyhydroxydes de Fe et Mn amorphes, la matière organique et les sulfures s'ajoutent comme phases porteuses supplémentaires de Ag non résiduel. Expliquant ainsi l'augmentation des pourcentages de Ag_{HCl} (i.e. potentiellement biodisponible) alors que les concentrations en Ag_{total} diminuent depuis l'arrêt de l'usine en 1986 (Fig. 3.5).

Avant 1977, le pourcentage de Ag dans la fraction (IV) était relativement constant et supérieur à celui calculé pour la période 1983-1996, alors que les concentrations maximales en Ag total sont similaires pour ces deux périodes (~6 à 7 mg/kg ; Fig. 3.5). La fraction extraite par HCl (1 M) étant considérée comme la fraction potentiellement biodisponible (Bryan et Langston, 1992 ; Langston et al., 1999), sa caractérisation est importante pour déterminer l'impact potentielle des sédiments (ou de leur remise en suspension) sur le biota, d'autant plus que les seuils de toxicités utilisés habituellement négligent la spéciation et par conséquent, la mobilité de Ag dans les sédiments (e.g. ERM ; Long et al., 1995).

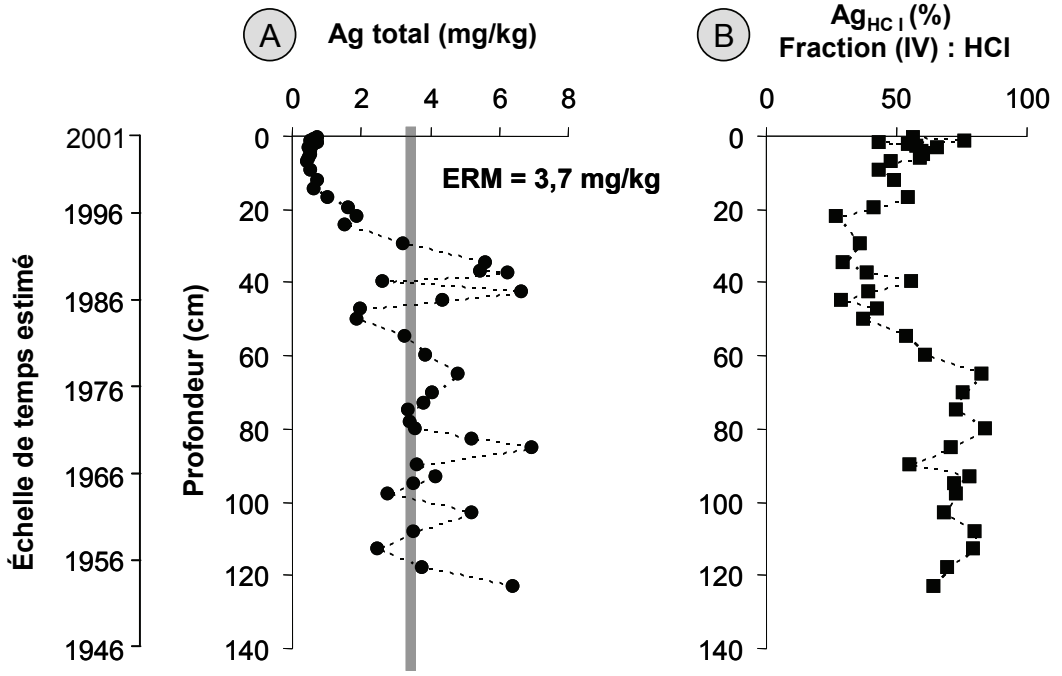

Figure 3.5. *Concentrations en Ag total dans la carotte de Cajarc en fonction de la profondeur et du temps (A). ERM : Effect Range Median : concentration à partir de laquelle les effets toxiques occasionnelles induit par Ag deviennent fréquents (Long et al., 1995). Contribution de la fraction en Ag extraite par HCl (1 M) à la teneur totale en Ag (B).*

L'évolution des procédés de traitement des résidus d'extraction du Zn montre elle aussi un changement important en 1977, date à partir de laquelle est instauré un traitement par voie humide qui comporte une étape électrolytique (Audry, 2003 ; Sivry et al., 2008). Ce traitement fait suite au dépôt sur les terrils de résidus non traités pour la période 1960 à 1977 et traités par cubilot (bas fourneau à combustion semi-conductrice) entre 1930 et 1960. Ce procédé, mis en place en 1977, a contribué à réduire significativement les concentrations en Cu dans les résidus, de même que son apport dans les sédiments de la retenue de Cajarc, mais n'a pas réduit les rejets de Zn et Cd (Audry, 2003). Le traitement électrolytique a induit un fractionnement isotopique du Zn enregistré dans les sédiments de Cajarc (Sivry et al., 2008 ; Fig. 3.5), distinguant deux périodes. La première période (A) entre 1952 et 1972 est caractérisée par un δ^{66}Zn de +0,89 ‰ à +1,03 ‰, alors qu'il est compris entre +1,21 ‰ à +1,36 ‰ lors de la seconde période (B) entre 1982 et 1995 (Fig. 3.6). Les sédiments de la première période (A) comportent une plus grande quantité de Ag potentiellement biodisponible (Fraction (IV) = 72 ± 8% ; A') que ceux datés après le traitement par électrolyse (Fraction (IV) = 38 ± 8% ; B'). Pour ces derniers, la contribution de la fraction

(IV) aux concentrations totales en Ag est similaire à celle des sédiments non pollués de Marcenac, comprise entre 27 et 54% (34±10% ; n=8). Ce procédé a donc permis de limiter les rejets en Ag après 1977, pendant la période de production maximale de Zn par l'usine Vieille Montagne (1977-1986 ; Jozereau, 1997).

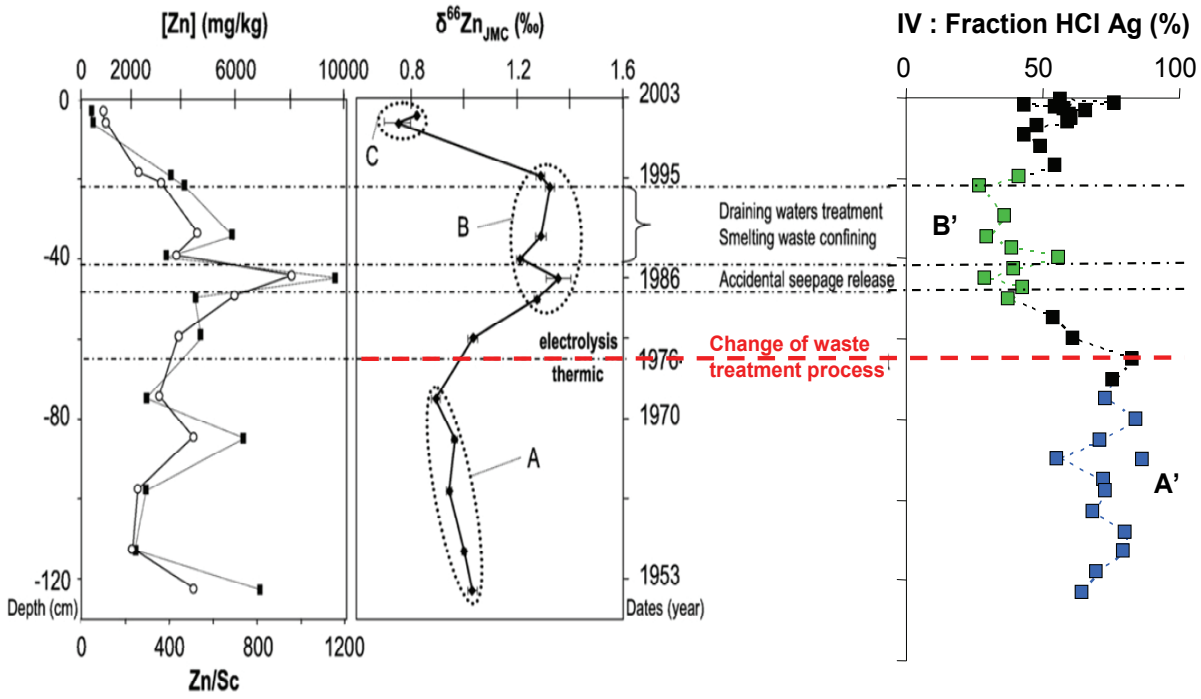

Figure 3.6. *Modifiée d'après Sivry et al. (2008). Profils des concentrations de Zn (mg/kg, carrés noirs) en fonction de la profondeur (cm) et du temps (année), Zn/Sc (cercles blancs) et δ^{66}ZnJMC (‰, losanges noires) dans la carotte de Cajarc. Concentrations de Zn et Zn/Sc d'après Audry et al. (2004c). Profil de la contribution de la fraction HCl (1 M) aux concentrations totales en Ag. Les périodes A' (carrés bleus) et B' (carrés verts) correspondent aux périodes A et B de Sivry et al. (2008).*

Bien qu'il existe une évolution similaire des concentrations totales en Ag et en Cd, indiquant globalement une source et un transport commun ($R_{Spearman}$=0,91; n=43; p<0.01 ; Fig. 3.7), l'augmentation des concentrations de Ag entre 65 et 75 cm de profondeur (~1972-1977) n'existe pas pour Cd (Fig. 3.8).

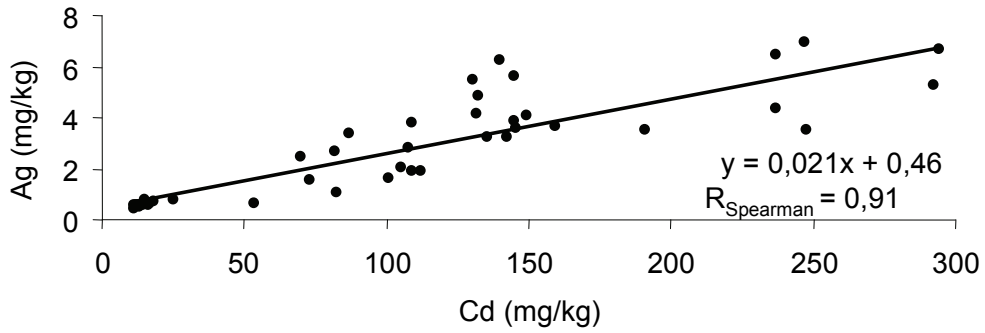

Figure 3.7. *Co-évolution des concentrations en Cd et Ag dans le profil sédimentaire de Cajarc ($R_{Spearman}$=0,91; n=43; p<0.01).*

Cette augmentation est aussi enregistrée pour les concentrations en Cu à la même profondeur (Fig. 3.8). L'existence d'un gisement de Cu (malachite et chalcopyrite) en amont de Cajarc (commune de Faycelles; fiches inventaires SNEAP ; http://sigminesfrance.brgm.fr) pourrait être la source d'apports ponctuels en Cu (Audry, 2003). Cependant, ces apports ne semblent pas être la cause de l'augmentation des concentrations en Ag, puisque les concentrations en Ag des sols de la commune de Faycelles sont faibles (<3 mg/kg ; limite de détection ; fiches inventaires SNEAP ; http://sigminesfrance.brgm.fr).

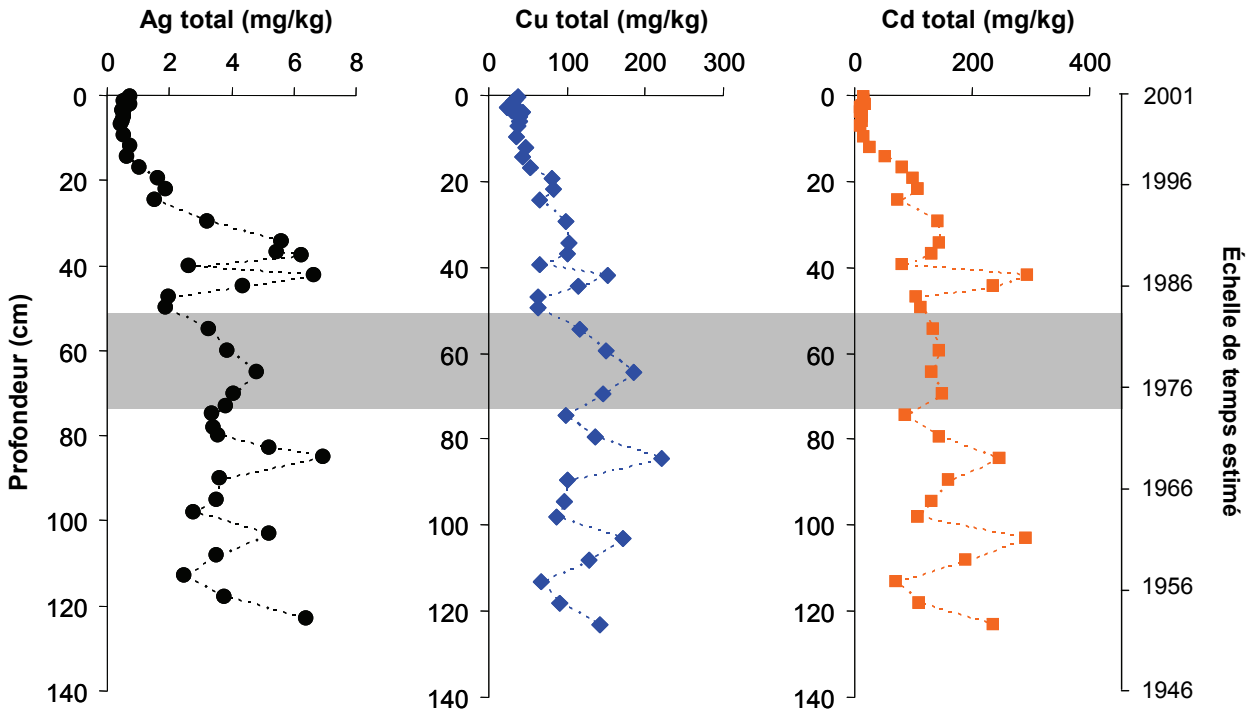

Figure 3.8. *Profils sédimentaires des concentrations en Ag, Cu et Cd totales dans la carotte de Cajarc. Cu et Cd d'après Audry (2003).*

Le maximum de l'augmentation des concentrations en Ag et en Cu correspond à l'année 1977. On ne peut donc exclure l'hypothèse selon laquelle ces apports seraient dus à un changement de nature du minerai pour un minerai plus riche en Ag et Cu, expliquant les rejets plus importants durant la période 1972-1977. Le changement de procédé de traitement en 1977 serait alors responsable de la diminution des concentrations pour Ag et Cu dans les résidus alors que ce procédé n'affecte pas Cd et Zn (Audry, 2003).

3.4. Conclusion

Afin d'apporter des éléments de réponse aux **fortes concentrations de Ag dans les huîtres de l'estuaire de la Gironde,** nos objectifs étaient :

- ✓ de déterminer l'origine et l'historique de la contamination en Ag dans l'estuaire de la Gironde,
- ✓ d'estimer la biodisponibilité potentielle de Ag dans les sédiments contaminés du Lot.

Les enregistrements historiques des concentrations en Cd et en Ag dans les profils sédimentaires des carottes de Marcenac et de Cajarc sur le Lot ont permis pour la première fois de montrer que :

- ✓ le bruit de fond géochimique de Ag dans le bassin versant du Lot (amont) est de 0,31±0,06 mg/kg, soit 5 fois le bruit de fond (0,07 mg/kg) mesuré dans les sédiments de la rivière St. Laurent (Canada ; Gobeil, 1999). Les sols du Massif Central, qui a été la région minière la plus importante en France pour l'extraction des métaux Au, W, As, U, Pb, Zn et Ag (Bril et al., 1994 ; Bril et Floc'h, 2001), sont naturellement riches en Ag. Leur érosion contribue donc aux concentrations en Ag mesurées dans les bassins versants concernés (Schäfer et Blanc, 2002).

- ✓ comme pour Cd, les activités minières et industrielles sur le bassin de Decazeville ont été une source en Ag pour le bassin versant pendant des décennies et jusqu'en 1986, les concentrations dans les sédiments de Cajarc se distinguant nettement du bruit de fond géochimique en atteignant jusqu'à 7,0 mg Ag /kg,

- ✓ près de 60% de Ag dans les sédiments de Cajarc sont biodisponibles et portés sur des phases argileuses,

- ✓ les sédiments datant de la période de production maximale de l'usine (1977-1986) sont ceux présentant le moins de Ag potentiellement biodisponible,

- ✓ l'évolution des procédés de traitement des résidus d'extraction de Zn vers un traitement électrolytique des résidus, plus efficient pour l'extraction de Ag, a diminué les rejets en Ag potentiellement biodisponible après 1977,

- ✓ l'arrêt des activités et la mise en place de moyens de remédiation ont permis de diminuer les rejets en Ag dont les concentrations à Cajarc ne sont plus que de 0,6±0,1 mg/kg entre 1999 et 2001 (i.e. les 5 premiers centimètres du sédiment sous la surface).

L'enregistrement historique de l'accumulation de Ag dans les huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde ces trente dernières années (1979-2007) représente à notre connaissance la seconde série chronologique au niveau mondial pour un bivalve bioaccumulateur et la première en Europe. L'évolution comparative des concentrations en Cd, stables jusqu'en ~1988 puis diminuant progressivement jusqu'en 2007 (Cd : ~90 à 30 mg/kg, ps), avec celles en Ag, stables jusqu'en 1986 et suivie par des valeurs maximales sur la période 1993-2003 (Ag : ~50 à 100 mg/kg, ps), suggère que :

- ✓ la quasi-totalité de Cd accumulé au cours du temps dans les huîtres provient de Decazeville (l'arrêt des émissions coïncidant avec la diminution de la bioaccumulation),

- ✓ contrairement à la diminution des concentrations en Cd dans les huîtres, l'augmentation des concentrations en Ag à partir des années 1990 révèle l'existence de source(s) supplémentaire(s).

Les facteurs de bioconcentration (FBC = concentration dans l'individu ou l'organe/concentration dans l'eau) minimaux de Ag et de Cd dans les huîtres du site de La Fosse, calculés à partir des concentrations maximales en Ag (8 ng/l) et Cd (170 ng/l ; Dabrin

et al., 2009) dissous et des concentrations récentes dans les huîtres (2004-2007), étaient respectivement de 6,25 10^6 et de 0,15 10^6. Par conséquent, l'accumulation de Ag dans les huîtres est ~40 fois supérieure à celle de Cd, soulignant l'impact de concentrations en Ag_D apparemment faibles sur ces organismes aquatiques.
Afin d'estimer la contribution de la source minière et industrielle du bassin de Decazeville dans l'accumulation de Ag par les huîtres, les concentrations en Ag ont été estimées à partir de celles en Cd d'après le rapport moyen Cd/Ag (~2) calculé pendant la période industrielle (i.e. avant 1986). Les résultats soutiennent que :

- ✓ les rejets en Ag provenant du bassin de Decazeville expliquent la quasi-totalité des concentrations en Ag dans les huîtres de l'estuaire de la Gironde avant ~1988,

- ✓ cependant, les concentrations maximales en Ag après 1988 résultent de la contribution croissante (>70% depuis 1999) de sources additionnelles en Ag.

La confrontation de l'évolution des concentrations en Cd et en Ag dans les huîtres au cours du temps, et de celle des flux particulaires respectifs estimés à l'entrée du tributaire majeur de l'estuaire de la Gironde, indique que la source en Ag est intra-estuarienne (i.e. en aval de La Réole).

En conséquence, la source polymétallique historique du bassin de Decazeville n'est pas la cause majoritaire expliquant les concentrations élevées en Ag dans les huîtres de la Gironde, contrairement au Cd. Parmi les sources supplémentaires qui peuvent être soupçonnées, l'industrie photographique a dans d'autres systèmes été à l'origine de pollution importante en Ag (i.e. Baie de San Francisco ; Squire et al., 2002). Malgré l'impossibilité d'accéder à des rejets quantifiés en France, l'activité de cette industrie peut néanmoins être estimée des ventes de films photographiques argentiques dont l'évolution est similaire aux concentrations en Ag dans les huîtres, étant maximum entre 1995 et 2001 (103 à 136 millions de films vendus) et diminuant depuis (25 millions en 2007). Malgré la généralisation des techniques numériques, la bioaccumulation de Ag dans les huîtres augmente de nouveau depuis 2005. D'autres emplois de Ag, tels que son usage dans les circuits électroniques et son utilisation croissante sous forme de nano-particules (e.g. vêtements, plastiques, ... ; Blaser et al., 2008), restent à identifier dans un futur proche.

Chapitre 4

Distribution des concentrations et estimation des flux de Ag dans les bassins versants de l'estuaire de la Gironde

4.1. Introduction

Les concentrations en Cd et en Ag dans les sédiments du Lot reflètent les activités industrielles et minières sur le bassin de Decazeville. L'arrêt de l'activité de l'ancienne usine d'extraction et de traitement des minerais de Zn à Decazeville en 1986, suivi par la diminution des émissions métalliques provenant de ce bassin, correspond à l'enregistrement de la pollution métallique en Cd par les huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde. Au contraire, la bioaccumulation maximale de Ag lors de la décennie 1993-2003 a mis en évidence une contribution croissante de sources additionnelles en Ag depuis les années 1990 (cf. Chap. 3).

En accord avec la littérature, plusieurs sources en Ag ont pu alors être soupçonnées :

- ✓ l'érosion de terrains naturellement riches (Schäfer et Blanc, 2002),
- ✓ la remobilisation des stocks sédimentaires, qui peut représenter une source secondaire de pollution pour l'estuaire lorsque les sédiments contaminés sont remobilisés soit naturellement lors d'évènements exceptionnels de crue (Coynel et al., 2007), soit artificiellement lors de travaux (Audry et al., 2004b),
- ✓ la remobilisation diagénétique de Ag, qui peut induire un flux benthique diffusif (Rivera-Duarte et Flegal, 1997),
- ✓ les rejets liés à l'industrie (alliages, brasures, conducteurs électriques, photographie ; Eisler, 1996) qui représente 66% de la demande mondiale en Ag en 2008 (GFMS WSS, 2009),
- ✓ les rejets de stations de traitement des eaux urbaines et industrielles, qui ont par exemple été mis en cause dans les concentrations anormales en Ag de la Baie de San Francisco et la Baie de l'Hudson (Flegal et al., 2007 ; Sañudo-Whilhelmy et Gill, 1999 ; Squire et al., 2002).

Il apparaît alors nécessaire de distinguer et de quantifier les sources naturelles des sources anthropiques en Ag. Par conséquent, les objectifs de ce chapitre ont été de :

- ✓ déterminer la variabilité saisonnière et annuelle des concentrations en Ag dissous (Ag_D) et Ag particulaire (Ag_P) dans les différents sous bassins versants de l'estuaire de la Gironde,

- ✓ quantifier leurs contributions aux apports en Ag_D et Ag_P à l'estuaire (i.e. quantifier les flux bruts en Ag),
- ✓ déterminer le rôle respectif des phases dissoute et particulaire dans le transport fluviale de Ag,
- ✓ distinguer la part naturelle des apports en Ag_P (i.e. liée à l'érosion) de celle anthropique.

Pour cela, la banque d'échantillons et de données à haute résolution temporelle du réseau d'observation à long terme de l'équipe TGM (UMR EPOC) installé sur le continuum fluvio-estuarien depuis plus d'une quinzaine d'années a été exploitée sur la période 1999-2009 pour Ag particulaire (Ag_P) et 2004-2009 pour Ag dissous (Ag_D).

4.2. Article #2 :

Silver fluxes to the Gironde Estuary - eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale

Laurent Lanceleur, Jörg Schäfer, Cécile Bossy, Alexandra Coynel, Aurélie Larrose, Matthieu Masson, Gérard Blanc

Applied Geochemistry 26 (2011) 797–808

Contents lists available at ScienceDirect

Applied Geochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/apgeochem

Silver fluxes to the Gironde Estuary – Eleven years (1999–2009) of monitoring at the watershed scale

Laurent Lanceleur, Jörg Schäfer*, Cécile Bossy, Alexandra Coynel, Aurélie Larrose, Matthieu Masson, Gérard Blanc

University of Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Av. des Facultés, 33405 Talence Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 27 August 2010
Accepted 2 February 2011
Available online 26 February 2011
Editorial handling by R.B. Wanty

ABSTRACT

Although Ag has long been recognized as highly toxic to aquatic organisms and as an efficient tracer of urban wastewater inputs, there are very few data available on Ag levels and fluxes in rivers and estuaries. Due to anomalously high Ag concentrations in oysters from the estuary mouth, dissolved (Ag_D) and particulate Ag (Ag_P) concentrations in rivers of the Gironde Estuary watershed were studied. Using daily discharge, Suspended particulate matter (SPM) data and monthly measured Ag_D and Ag_P, the respective fluxes were estimated at the three main entries of the Gironde Estuary and at selected key sites at the outlets of different sub-watersheds for multiple years of the past decade. Dissolved and particulate Ag concentrations were 0.5 ng/L (detection limit) to 5.7 ng/L and 0.13–13.9 mg/kg in all rivers, except for the Riou-Mort River (up to 1260 ng/L and 261 mg/kg) that has been heavily polluted by former Zn ore treatment and remaining waste tailings. At all sites Ag transport mainly (73–100%) occurred in the particulate phase, i.e. strongly depended on hydrological parameters. Comparing Th-normalised (i.e. grain size independent) Ag_P levels at the different sites including one remote site showed that the regional background is best described by $Ag_P/Th_P = 0.026$. The anthropogenic components in Ag_P levels and fluxes ranged from 24% to 90% at all sites, except for the Riou-Mort River (81–99%). Although this former ore treatment site still is an evident Ag source to the Lot-Garonne fluvial–estuarine system, its contribution to Ag fluxes at the main entry of the Gironde Estuary (i.e. 0.33–2.44 t/a at the La Reole site) is <11%. This clearly suggests that other sources such as rock weathering and erosion (0.057–0.817 t/a), urban wastewater inputs (0.042–0.057 t/a) and cloud-seeding (0.030–0.063 t/a) contribute the major parts of the fluvial Ag budget in this watershed. The estimated anthropogenic surface- and population-specific Ag fluxes in the studied system were 1.14–682 g/km^2/a and 0.028–6.05 g/person/a, respectively. The results obtained suggest that the Gironde fluvial–estuarine system is contaminated by Ag inputs from various sources, but further work is necessary to (i) identify and quantify the major sources and (ii) produce comparable data for other systems, which would be useful for the evaluation of Ag contamination at a larger scale.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Silver is considered one of the most toxic metals, especially in its ionic form (Eisler, 1996; Fisher et al., 1984; Ratte, 1999) and has been used as a disinfectant since antiquity (Castellano et al., 2007; Forbes, 1953). The recently increasing use of Ag as an antimicrobial agent associated with nanoparticles (nanosilver, e.g. Choi et al., 2008; Kim et al., 2007; Rai et al., 2009) is of environmental concern as this may lead to additional Ag inputs into aquatic environments (Luoma, 2008). Industrial applications (photography, electronics, jewellery, etc.; US PHS, 1990) have strongly contributed to Ag emissions, which reflect the ups and downs in technical applications, recycling and wastewater management (Benn and Westerhoff, 2008; Blaser et al., 2008). Despite efficient Ag removal in sewage plants (>94%, Shafer et al., 1999), the remaining Ag levels released into waters make it a classical tracer of urban wastewater inputs (Rozan and Hunter, 2001; Sañudo-Wilhelmy and Flegal, 1992; Tappin et al., 2010). Non-urban sources are mostly related to the mining and ore extraction industries (Jones, 1986; Smith and Carson, 1977; Tappin et al., 2010; Turekian and Scott, 1967), which have also undergone strong fluctuations over time and produced huge amounts of waste inducing widespread contamination. Resuspension of contaminated sediment and diagenetic remobilisation are potential secondary sources to river systems, even decades after reducing inputs from the initial point source (Kalnejais et al., 2010; Rivera-Duarte and Flegal, 1997; Rozan and Hunter, 2001; Tappin et al., 2010).

Understanding the temporal evolution of contaminant levels in a heterogeneous watershed and the related sources requires

* Corresponding author. Tel.: +33 540002967; fax: +33 556880848.
E-mail address: j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr (J. Schäfer).

0883-2927/$ - see front matter © 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.apgeochem.2011.02.001

adapted long-term monitoring strategies (Coynel et al., 2004, 2009). At the global scale, Ag concentrations in water, sediment and biota of a few, strongly contaminated systems have been monitored over decades, including freshwater and coastal water. For example, previous work on the San Francisco Bay, known as the "Silver Estuary", has shown a decreasing trend mainly attributed to municipal and industrial wastewater discharges Ag concentrations in sediment, biota and water over the past three decades (Flegal et al., 2005, 2007; Squire et al., 2002).

The Gironde Estuary, SW France, is a major European estuary that drains a less industrialized and urbanized watershed covering ~80,000 km^2 (~18% of continental France) and only two big urban agglomerations (Toulouse and Bordeaux, both ~1 million inhabitants; Fig. 1). Despite this apparently low anthropogenic pressure, the Gironde fluvial–estuarine continuum has been heavily impacted by former mining (Au, Ag, Pb, Zn, As and coal) and ore treatment (Zn) (e.g. Audry et al., 2004c; Blanc et al., 1999; Grousset et al., 1999), and by current intensive agriculture (Masson et al., 2006). This historical pollution still persists due to heavy contamination in reservoir sediments that are important secondary sources, especially when floods, dam management or dredging induce sediment resuspension (Audry et al., 2004b; Coynel et al., 2007a). Cadmium has long been considered as the major pollutant because of its impact on seafood quality, especially oysters. This pollution was discovered in the late 1970s by The French National Network for the Observation of Marine Environment Quality (RNO, the French Mussel-Watch Program; Boutier, 1981; Claisse, 1989), which has led to the prohibition of shellfish production in the estuary (CE No. 466/2001). Many other, less studied metal(loid)s also show important anomalies in different compartments of the fluvial–estuarine continuum, such as sediments, suspended particulate matter (SPM), groundwater and surface water and coastal organisms such as oysters (e.g. Zn, Cu, Hg, As; Audry et al., 2004c; Baudrimont et al., 2005; Castelle et al., 2007; Claisse, 1989; Coynel et al., 2007b; Masson et al., 2007; Schäfer et al., 2006). Recent work has revealed high mean Ag concentrations (26–60 mg/kg, dw) in oysters (*Crassostrea gigas*) and mussels (*Mytilus edulis, Mytilus galloprovincialis*) from the Gironde Estuary and the adjacent Marennes-Oleron Bay affected by the Gironde Estuary outputs (Chiffoleau et al., 2005; Parra et al., 1998). These concentrations are much higher than the respective values at the other 80 RNO sampling sites along the French Atlantic and Mediterranean coasts, except for the Seine Estuary downstream of Paris (~10 million inhabitants). The assessment and management of such heavy bioaccumulation in coastal aquatic organisms suggests that detailed knowledge on Ag concentrations, speciation, geochemical background, behaviour and fluxes in the fluvial–estuarine continuum is also required.

A few previous studies have shown that dissolved Ag concentrations in river water are in the low ng/L range, with the presumably most toxic form Ag^+ being dominant (e.g. Barriada et al., 2007; Ratte, 1999; Reinfelder and Chang, 1999). Particulate Ag entering estuarine salinity gradients is partly desorbed and released into the dissolved phase by chloro-complexation (Davis and Leckie,

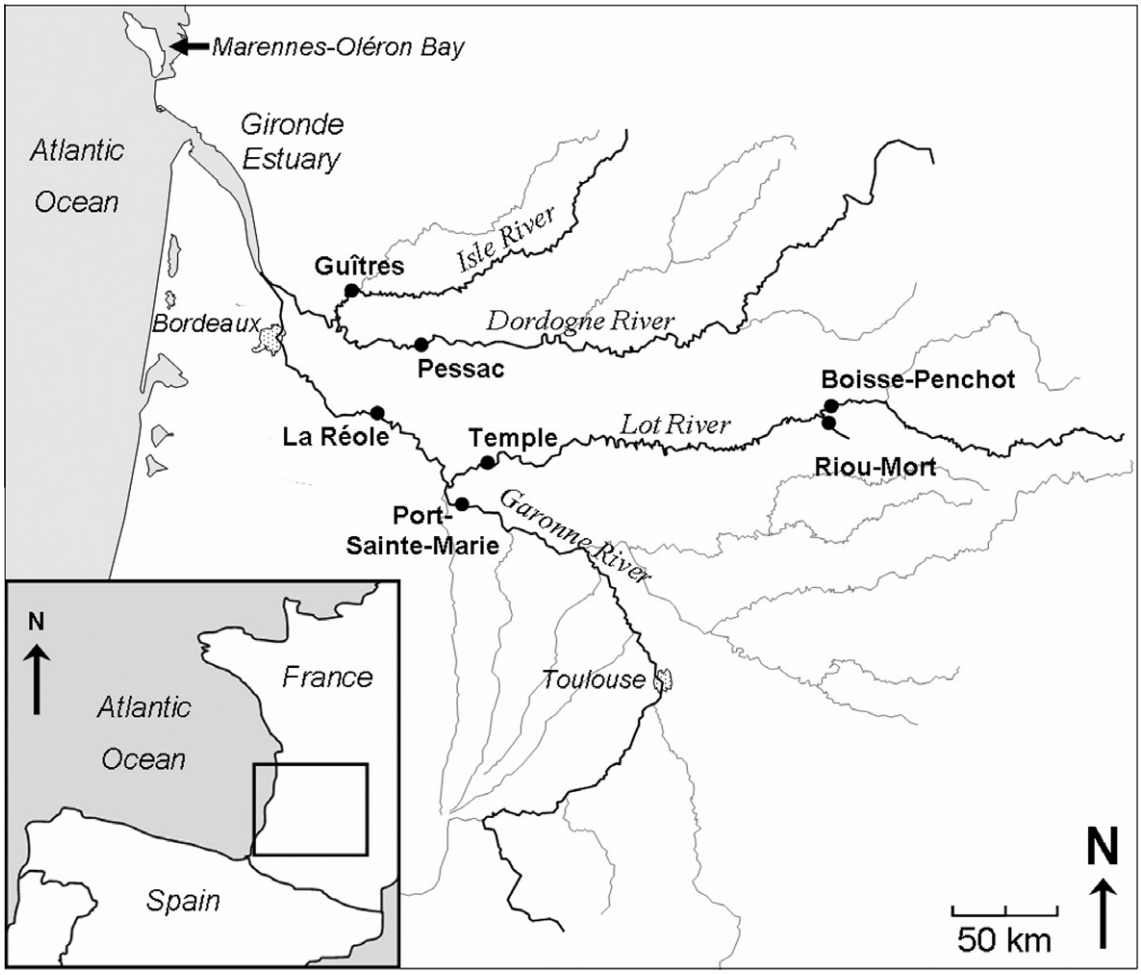

Fig. 1. Map of the Gironde Estuary and its tributaries. Black dots show the observation sites.

1978; Luoma et al., 1995). The existing, extremely scarce information on Ag fluxes in rivers is based on few (single) samples and analyses combined with mean annual discharge (e.g. Breuer et al.; 1999; Turekian and Scott, 1967; Zhang et al., 2008), i.e. it probably suffers from very high uncertainties due to low sampling frequencies (e.g. Coynel et al., 2004). Although the observed anomaly in the wild oysters at the estuary mouth and the known, metallurgy-related polymetallic pollution of the Gironde Estuary and its watershed highlight the need to identify and quantify sources, fluxes and understand the behaviour of Ag in this fluvial–estuarine system, there is no Ag data available. Based on 11 a of high temporal resolution observation, the present work aims at providing the first reliable data on dissolved and particulate Ag concentrations and fluxes in rivers at representative sites in the Gironde Estuary watershed. From this, the authors (i) propose regional geochemical background values for Ag, (ii) estimate the anthropogenic component and (iii) discuss population- and surface-specific fluxes in the major sub-watersheds together with gross fluxes to the estuary.

2. Materials and methods

2.1. Study area

The Gironde Estuary (SW France) drains a basin surface of ~80,000 km^2 (e.g. Schäfer et al., 2002; Fig. 1) composed of three main river systems: the Garonne River (~51,500 km^2), the Dordogne River (~15,000 km^2) and the Isle River (~7000 km^2). The sum of freshwater discharges provided by national and regional offices (Port Autonome de Bordeaux; DIREN) averages 870 m^3/s during the studied decade. For each of these rivers, the sampling sites at the respective entries of the Gironde Estuary were chosen upstream of the dynamic tidal zone to exclude disturbances by estuarine influences (e.g. alternating flow direction, salinity), but as far downstream as possible to integrate a maximum area of the drainage basin (Schäfer and Blanc, 2002). The observed sites, namely Pessac (Dordogne River, shortened "P", 2000–2002 and 2004), Guîtres (Isle River, G, 2000–2002) and La Réole (Garonne River, LR, 1999–2009) represent the three main entries of the Gironde Estuary, where the Garonne River contributes the major part of water, SPM and associated contaminants (Fig. 1; Schäfer et al., 2002). Additional key sites in the watershed were selected to quantitatively understand the contribution of the major point source of the historical polymetallic pollution (Riou-Mort basin; Fig. 1) to show Ag transport to the Gironde Estuary. Accordingly, the sites Port-Ste-Marie (Garonne River, PSM, 1999–2009), Temple (Lot River, T, 1999–2009), Riou-Mort (Riou-Mort River, RM, 1999–2009) and Boisse-Penchot (Lot River, BP, 2004–2009) cover the Lot-Garonne River continuum.

2.2. Sample collection

Estimating fluxes in river systems requires adapted sampling strategies, equipment and frequencies that match with the variability of river-specific parameters (e.g. discharge, SPM load), because inadequate sampling induces extremely high uncertainties with systematic underestimation of fluxes (Coynel et al., 2004). Accordingly, adapted site-specific sampling protocols were used in the regional observation network (e.g. Audry et al., 2004a,b; Masson et al., 2006). At the Guîtres, Temple and Riou-Mort sites, river water samples for suspended particulate matter (SPM) measurements were collected automatically every 90–180 min using automatic sampling devices (integrated pumping, rinsing and sample distribution systems; Bühler PB-MOS; SIGMA 900P), which integrated 8–16 discrete samples into a 1 L daily composite sample. At the Pessac, La Réole, Port-Sainte-Marie and Boisse-Penchot sites, daily water samples for SPM determination were collected manually. Both automatic and manual SPM samplings were performed in the mainstream at ~1–2 m from the riverbank and at ~0.2–0.5 m depth, depending on the river section. Daily suspended particulate matter (SPM) concentrations were determined by filtration of precise volumes of river water through dry pre-weighed filters (Whatman GF/F, 0.7 μm) which were dried again to constant weight at 50 °C and re-weighed.

Additionally, water and SPM (for dissolved and particulate Ag analyses, respectively) were sampled at the different sites every 24–26 days using clean techniques at ~1 m from the riverbank and at ~0.2 m depth. Water samples were filtered immediately through 0.2 μm polycarbonate filters (Nucleopore®) and filtrates were collected in an acid-washed PP bottles previously rinsed with an aliquot of the filtrate, acidified (HNO_3 suprapur 0.2 %) and stored in the dark at 4 °C awaiting analysis. Particulate matter for trace element analyses was collected with a PP-pump with PP-tubing followed by centrifugation (Westfalia; 12,000*g*). This technique is considered a practicable and reliable method for representative SPM sampling in all hydrologic situations (Lapaquellerie et al., 2000; Schäfer and Blanc, 2002). The particle samples were dried (50 °C, 48 h), powdered and homogenized with an agate mortar and stored in sealed PP recipients (laboratory-internal sample bank) awaiting analysis. Representative sub-samples (30 mg of dry, powdered and homogenized SPM) were digested in acid-cleaned PP-tubes (DigiTUBEs®, SCP SCIENCE) using 1.5 mL HCl (12 M, suprapur), 0.5 mL HNO_3 (14 M, suprapur) and 2 mL HF (26 M, suprapur) at 110 °C for 2 h using a temperature-controlled digestion system (DigiPREP MS®, SCP SCIENCE). After evaporation to dryness, the digestates were brought to 10 mL using 150 μl HNO_3 (suprapur) and double deionized (Milli-Q®) water, then stored in the dark at 4 °C awaiting analysis (adapted from Audry et al. (2004b) and Schäfer and Blanc (2002)).

2.3. Analyses

Dissolved Ag (Ag_D) and (Ag_P) concentrations were systematically analysed from 2004-on, and pre-2004 SPM samples from the sample bank were analysed in 2009. Determination of Ag_D and Ag_P concentrations was performed by ICP-MS (Thermo-Fisher X7) with external calibration. Detection limits (3-fold SD of method blank values) were 0.5 ng/L for Ag_D (n = 210) and 0.007 mg/kg for Ag_P (n = 42).

Identical protocols were applied for the analysis of certified international reference sediments (NCS-DC-70317, NCS-DC-70311, LKSD-4 and IAEA-356) and river water (NIST-1640 to check the quality of analytical methods (Table 1). The obtained results

Table 1
Results obtained from analyses of certified reference materials. *n*: Number of independent analyses.

Reference Material	Description	*n*	Certified value	Measured value Mean±SD	Unit
NCS DC 78301	River sediment	97	–	0.62 ± 0.08	mg/kg
LKSD-4	Lake sediment	23	<0.5 (0.2 with aqua regia)	0.28 ± 0.02	mg/kg
LGC 6187	River sediment	23	–	2.42 ± 0.17	mg/kg
IAEA-405	Estuarine sediment	21	–	0.99 ± 0.11	mg/kg
IAEA-356	Polluted marine sediment	11	5.19–11.6	7.22 ± 1.11	mg/kg
NCS-DC-70311	River sediment	10	6.11–7.35	6.13 ± 0.32	mg/kg
NCS-DC-70317	River sediment	10	0.30–0.34	0.37 ± 0.02	mg/kg
NIST-1640 1000-fold diluted	River water	23	7.62	7.65 ± 0.23	ng/L

were in most cases within the certified ranges for Ag_P and Ag_D, except for NCS-DC-70317, where recovery was 108%. Precision (relative standard deviation) was better than 3% at the 0.32 mg/kg level for Ag_P ($n = 9$) and <10% at the 0.76 ng/L level (NIST-1640 diluted 10,000-fold) for Ag_D ($n = 9$). The results of parallel analyses of international reference sediments without certified Ag values (NCS-DC-78301, LGC-6187 and IAEA-405) are given in Table 1 and the obtained precision was consistent with that obtained for certified materials.

2.4. Data treatment

Values below detection limit (DL) were arbitrarily replaced by the detection limit, i.e. 0.5 ng/L. Two-group comparisons were conducted using the non-parametric Mann–Whitney *U* test and correlations of values were tested using the Spearman R Rank Correlation. Multiple group comparisons were performed using the Kruskal–Wallis rank test method followed by a multiple comparison of mean ranks when significant ($p < 0.05$).

2.5. Thorium (Th) normalisation

In order to remove the grain size effect, the measured Ag_P was normalised against particulate Th concentrations (Th_P) obtained for the same samples. Thorium is highly insoluble (Van Calsteren and Thomas, 2006) and is currently applied as a normaliser due to its close relationship with grain size in sediments (Coynel et al., 2007a; Larrose et al., 2010). Assuming that Ag_P/Th_P ratios are lowest in samples with minimum anthropogenic Ag component, i.e. samples representing geochemical background, the lowest Ag_P/Th_P ratios observed at the different sites (including a remote site) were used to estimate natural and anthropogenic components in SPM. Accordingly, theoretical 'natural' Ag_P fluxes were estimated from Th_P fluxes and the anthropogenic Ag_P fluxes were obtained by difference with total Ag_P flux estimates.

2.6. Flux estimates

National and regional offices (Grand Port Maritime de Bordeaux; Port Autonome de Bordeaux; DIREN) in charge of the observation of river discharge have provided the daily discharge data for the Garonne, Dordogne and Isle Rivers for the observation period (1999–2009).

Annual Ag_D fluxes (F_{AgD}) at the different sites were estimated from daily discharge and dissolved element concentrations (measured every 24–26 days) using commonly applied equations (e.g. Meybeck and Ragu, 1996; Meybeck et al., 1994; Webb et al., 1997; Schäfer et al., 2002; Audry et al., 2004b; Masson et al., 2006, 2009) as follows:

$$F_{Ag_D} = \sum_{1}^{365} F_{water} C_{Ag_D}$$

where F_{water} was the daily water flux and C_{AgD} the Ag_D levels that were considered as constant between each sampling.

Accordingly, annual Ag_P fluxes (F_{AgP}) were estimated from daily SPM fluxes (F_{SPM}) and particulate Ag_P levels (C_{AgP}) measured every 24–26 days, that were considered as constant between each sampling:

$$F_{Ag_P} = \sum_{1}^{365} F_{SPM} C_{Ag_P}$$

To compare Ag contamination in the different watersheds, specific fluxes were calculated by watershed area and by population (INSEE, 2006).

3. Results

3.1. Hydrology

The Garonne River hydrology, measured at La Réole during the observed period (1999–2009), was representative of 20th century mean annual discharges (Probst and Tardy, 1985). According to their classifications, two very dry years (2005 and 2006) with annual average discharge $Q_{average} < 400\ m^3/s$, five dry years (2001–2003, 2007 and 2009) with $Q_{average}$ between 400 and 550 m^3/s, and four mean years (1999, 2000, 2004 and 2008) with $Q_{average}$ between 550 and 700 m^3/s were observed (Table 2). Typical discharge patterns are high discharge with several floods during autumn-spring (wet season) and 2–4 months of draught during summer (dry season; e.g. Masson et al., 2007). During the last decade, the hydrology of 2 years clearly differed from this typical pattern: (i) The year 2003 showed very low discharge throughout the year, except for two major floods and would have been a very dry year without the two exceptional floods that accounted for 90% of annual SPM fluxes in the Garonne River (Coynel et al., 2007a; DIREN). (ii) The year 2005 did not show the typical wet season, when metal transport in the watershed is generally high (Masson et al., 2007).

3.2. Silver levels in the different sub-watersheds

Dissolved Ag concentrations (2004–2009) ranged from <0.5 (DL) to 5.7 ng/L for both the Lot and the Garonne Rivers and from 0.6 to 3.1 ng/L for the Dordogne River (2004; Fig. 2; Table 2). The highest concentrations (up to 1260 ng/L in 2006) occurred systematically in the Riou-Mort River, an affluent of the Lot River (Figs. 1 and 2). However, year-by-year comparisons showed significantly higher Ag_D ($p < 0.05$, $n > 18$; Fig. 3) in the Garonne River (PSM) than in the Lot River (T) upstream of their confluence for the years 2004–2006 and 2008. In these two watersheds, Ag_D were correlated ($p < 0.05$) for the years 2004 ($R = 0.87$; $n = 11$), 2007 ($R = 0.72$; $n = 15$) and 2008 ($R = 0.65$; $n = 16$). A significant correlation occurred between Ag_D and discharge at site T ($R = 0.29$; $p < 0.05$; $n = 85$), conversely to RM ($R = -0.27$; $p < 0.05$; $n = 81$), whereas no correlation appeared for PSM ($R = -0.03$; non-significant; $n = 82$) nor BP ($R = -0.21$; ns; $n = 71$).

Average Ag_P were respectively 1.18 ± 0.77 and 0.70 ± 0.27 mg/kg in the Dordogne (P; 2000–2002 and 2004) and the Isle Rivers (G; 2000–2002), i.e. rather similar to average Ag_P in the Garonne River (LR; 1.07 ± 0.75 mg/kg) during the same period (Table 2). During 1999–2009, Ag_P in the Riou-Mort River (RM; 9.68 ± 35.3 mg/kg) were highly variable and significantly higher than those in the Garonne River (RM > PSM; $p < 0.01$; $n > 28$), except for the years 1999 and 2001 ($p = 0.05$ and $p = 0.18$, respectively). Mean Ag_P at the RM site was highly influenced by exceptionally high Ag concentrations measured in 2006 (Figs. 2 and 3). Excluding 2006 values for RM site, Ag_P dropped to 3.32 ± 3.53 mg/kg. No significant difference in Th_P existed between the Lot (T) and the Garonne (PSM) Rivers, except for the years 2003 (PSM > T; $p < 0.05$; $n = 43$) and 2005 (PSM > T; $p < 0.01$; $n = 30$). Even if particle size ranges were globally equal, no significant correlation of Th_P was found between these two watersheds except in 2003 ($R = 0.59$, $n = 17$), justifying Th_P normalisation for their comparison.

Comparison of Ag_P did not show significant differences ($p = 0.15$; $n = 316$) between Ag_P in the Lot (T; 1.35 ± 1.56 mg/kg) and in the Garonne Rivers (PSM; 1.12 ± 0.79 mg/kg), even in year-by-year comparisons, except for the years 1999 (PSM > T, $p < 0.01$, $n = 14$) and 2006 (T > PSM, $p < 0.01$, $n = 32$). After Th_P-normalisation, a significant difference occurred between Ag_P/Th_P ratios in both watersheds (Figs. 2 and 3) for the whole observation period ($p < 0.01$; $n = 282$), showing higher Ag_P/Th_P in the Lot River than in the

Table 2
Annual mean (x), minimum (min) and maximum (max) water discharges (n = 365), SPM concentrations (n = 365), particulate and dissolved silver concentrations (Ag_P and Ag_D; n = 12–23 for both parameters and each year) and estimated water (F_{water}), SPM (F_{SPM}), dissolved Ag (F_{AgD}), particulate Ag (F_{AgP}), total Ag (F_{AgTOT}) and anthropogenic Ag ($F_{Anthr.AgP}$) fluxes at each site during the 1999–2009 period. LR: La Réole, PSM: Port-Sainte-Marie, T: Temple, RM: Riou-Mort, BP: Boisse-Penchot, P: Pessac, G: Guîtres, *nm*: not measured, *DL*: below detection limit. INSEE (2006) provided watershed surface and population data.

Site	Year	Discharge (m^3/s)			SPM (mg/L)			F_{water} (km^3)	F_{SPM} Mt/year)	Ag_D			Ag_P (mg/kg)			F_{Ag} (t/year)			$F_{Anthr.AgP}$ (t/year)	%
River		*x*	Min	Max	*x*	Min	Max			*x*	Min	Max	*x*	Min	Max	F_{AgD}	F_{AgP}	F_{AgTOT}		
LR	1999	638	77	2910	46	0.6	461	20.1	1.73	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.35	1.05	1.60	*n.m.*	2.44	>2.44	1.88	77
Garonne River	2000	590	84	3590	45	0.4	1550	19.0	1.77	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.87	0.50	1.29	*n.m.*	1.63	>1.63	1.13	69
3247,223 inhab.	2001	537	87	2330	31	0.6	407	16.9	1.00	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.67	0.32	1.10	*n.m.*	0.659	>0.659	0.348	53
51,260 km²	2002	407	100	2360	31	0.8	614	12.8	0.87	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.70	1.00	4.93	*n.m.*	1.30	>1.30	0.828	64
	2003	544	58	4740	52	0.2	942	17.2	2.56	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.97	0.23	2.19	*n.m.*	2.12	>2.12	1.30	61
	2004	631	89	3740	33	0.2	464	19.9	1.60	2.1	0.7	5.3	1.53	0.72	3.08	0.041	1.49	1.53	1.03	69
	2005	347	54	1020	16	0.4	307	10.9	0.23	3.0	1.4	5.7	1.29	0.89	1.97	0.020	0.306	0.326	0.249	81
	2006	389	54	4040	29	0.7	679	12.3	0.90	1.8	1.0	3.3	0.84	0.50	1.84	0.029	0.859	0.888	0.591	69
	2007	410	93	1930	37	0.4	1160	12.9	0.87	1.7	0.7	4.6	0.55	0.34	1.01	0.025	0.514	0.539	0.234	46
	2008	555	94	2950	34	0.8	523	17.6	1.21	1.7	0.7	4.4	0.58	0.39	1.36	0.033	0.675	0.708	0.245	36
	2009	525	72	4720	25	0.2	761	16.5	1.30	0.9	*DL*	1.9	0.57	0.34	1.13	0.008	0.913	0.921	0.588	64
PSM	1999	613	89	2930	43	0.6	461	19.3	1.55	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.61	1.24	3.10	*n.m.*	2.32	>2.32	1.77	76
Garonne River	2000	422	24	3410	36	0.3	1330	13.7	1.41	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.84	0.25	1.50	*n.m.*	0.949	>0.949	0.443	47
2,717,590 inhab.	2001	374	37	1900	24	0.3	314	11.8	0.54	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.81	0.56	1.19	*n.m.*	0.339	>0.339	0.124	37
35,130 km²	2002	328	85	1770	53	0.8	785	10.3	0.94	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.61	0.67	2.68	*n.m.*	1.21	>1.21	0.643	53
	2003	383	40	4340	137	0.8	2410	11.9	1.97	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.05	0.28	2.13	*n.m.*	1.65	>1.65	0.961	58
	2004	442	68	3220	26	0.2	680	14.0	1.02	2.1	0.7	4.0	1.85	0.50	4.94	0.025	0.794	0.796	0.478	60
	2005	253	38	829	9	0.2	270	7.98	0.11	3.6	2.4	5.7	1.96	0.97	4.85	0.017	0.197	0.214	0.165	84
	2006	248	39	2540	31	0.2	913	7.83	0.87	2.2	0.9	4.2	0.89	0.39	1.56	0.021	1.14	1.16	0.865	76
	2007	257	57	986	38	1.0	1380	8.10	0.62	1.7	0.4	4.0	0.57	0.32	0.87	0.015	0.376	0.391	0.184	49
	2008	342	65	1670	35	0.2	657	10.8	0.75	1.8	0.8	3.6	0.58	0.32	1.67	0.022	0.363	0.385	0.135	37
	2009	363	55	2960	25	0.2	410	11.5	0.70	0.9	*DL*	1.6	0.61	0.37	1.00	0.008	0.407	0.415	0.235	58
T	1999	159	15	934	81	0.9	1020	5.02	0.71	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.82	0.26	1.19	*n.m.*	0.608	>0.608	0.365	60
Lot River	2000	185	18	650	84	9.1	588	5.85	0.71	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.01	0.55	1.54	*n.m.*	0.768	>0.768	0.533	69
350,452 inhab.	2001	164	12	747	106	6.3	830	5.17	0.89	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.19	0.10	4.58	*n.m.*	0.892	>0.892	0.585	65
11,290 km²	2002	81	12	452	22	2.8	153	2.57	0.10	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.44	1.06	1.66	*n.m.*	0.145	>0.145	0.128	88
	2003	136	17	2500	26	1.9	1200	4.22	0.59	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.43	0.53	3.02	*n.m.*	0.602	>0.602	0.414	69
	2004	162	20	1130	17	2.0	126	5.13	0.16	1.1	0.4	3.1	2.06	0.66	5.91	0.007	0.251	0.258	0.199	79
	2005	85	16	316	4	0.1	31	2.70	0.01	1.6	0.8	2.6	2.94	0.91	13.9	0.003	0.027	0.030	0.024	90
	2006	120	16	694	4	0.1	39	3.79	0.02	1.4	0.6	2.6	1.39	0.68	2.09	0.007	0.017	0.024	0.013	75
	2007	122	20	896	20	0.2	244	3.83	0.13	1.3	0.5	2.4	0.69	0.33	1.11	0.005	0.098	0.103	0.050	51
	2008	182	20	877	28	1.1	397	5.77	0.29	1.3	0.3	3.5	0.64	0.39	0.97	0.009	0.147	0.156	0.061	42
	2009	125	20	1230	19	1.7	509	3.93	0.21	0.7	*DL*	3.0	1.29	0.21	9.68	0.001	0.257	0.258	0.206	80
RM	1999	2.6	0.2	29	177	1.4	3680	0.08	0.035	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	2.77	1.02	5.48	*n.m.*	0.073	>0.073	0.064	87
Riou-Mort River																				
17,578 inhab.	2000	1.9	0.1	22	205	4.0	2670	0.06	0.033	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.67	1.03	2.34	*n.m.*	0.054	>0.054	0.047	86
156 km²	2001	1.8	0.1	24	213	0.0	5810	0.06	0.034	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.83	0.46	6.65	*n.m.*	0.052	>0.052	0.043	82
	2002	1.0	0.1	28	122	3.5	2080	0.03	0.012	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	3.10	1.23	7.83	*n.m.*	0.026	>0.026	0.023	88
	2003	1.6	0.1	107	39	1.4	1750	0.05	0.025	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	4.17	0.80	7.88	*n.m.*	0.117	>0.117	0.106	91
	2004	1.5	0.1	35	34	0.6	1460	0.05	0.006	40.2	2.0	213	5.21	0.79	34.7	0.001	0.011	0.012	0.009	81
	2005	0.5	0.1	4	38	0.6	884	0.02	0.001	14.5	4.5	33.5	4.08	1.38	7.29	<0.001	0.005	0.005	0.005	94
	2006	1.2	0.1	17	52	0.4	1890	0.04	0.005	290	5.4	1260	51.6	0.71	261	0.002	0.017	0.019	0.017	99
	2007	1.0	0.1	18	51	1.0	1080	0.03	0.005	7.8	2.8	25.9	2.48	0.28	6.50	<0.001	0.011	0.011	0.010	94
	2008	1.9	0.1	20	125	3.3	5450	0.06	0.029	10.6	3.7	42.8	3.10	0.75	14.2	0.001	0.075	0.076	0.065	87
	2009	1.2	0.1	32	87	21.3	1610	0.04	0.015	5.7	1.7	19.3	4.22	0.39	13.3	<0.001	0.098	0.098	0.094	96
BP	2004	109	3	585	12	0.2	334	3.43	0.07	1.1	0.5	3.5	1.97	0.84	4.11	0.004	0.134	0.138	0.111	83
Lot Rive	2005	56	11	255	5	0.2	182	1.77	0.01	2.5	1.0	4.8	2.99	0.64	12.0	0.002	0.019	0.021	0.017	88
132,855 inhab.	2006	83	12	458	8	0.4	215	2.61	0.03	2.5	0.5	3.8	1.24	0.44	3.79	0.004	0.023	0.027	0.016	70
6411 km²	2007	83	12	558	8	0.2	95	2.61	0.03	1.7	0.5	3.8	0.61	0.36	1.09	0.003	0.023	0.026	0.015	66
	2008	157	12	898	9	0.2	122	4.97	0.08	1.5	0.4	3.6	0.65	0.28	2.10	0.007	0.034	0.041	0.008	24
	2009	97	11	861	8	0.0	249	3.07	0.03	0.8	*DL*	2.2	0.48	0.27	0.90	0.002	0.018	0.020	0.009	50
P	2000	364	123	1250	28	0.2	656	11.5	0.56	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.64	0.13	1.02	*n.m.*	0.295	0.295	0.155	53
Dordogne River	2001	328	50	1530	30	0.2	630	10.3	0.58	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.18	0.33	3.01	*n.m.*	0.349	0.349	0.235	67
589,179 inhab.	2002	244	72	684	24	0.4	488	7.69	0.23	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	1.86	0.88	3.41	*n.m.*	0.382	0.382	0.329	86
14,980 km²	2003	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*
	2004	215	46	1640	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*	*n.m*
G	2000	79	11	557	21	2.0	177	2.50	0.08	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.52	0.35	0.73	*n.m.*	0.034	0.034	0.013	39
Isle River	2001	78	17	565	18	1.2	168	2.45	0.07	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.73	0.39	1.25	*n.m.*	0.033	0.033	0.015	45
288,415 inhab.	2002	43	8	194	14	2.0	159	1.37	0.03	*n.m.*	*n.m.*	*n.m.*	0.82	0.53	1.26	*n.m.*	0.022	0.022	0.008	37
6986 km²																				

Garonne River for years 2006 (p < 0.01; n = 26), 2008 (p < 0.05; n = 34) and 2009 (p < 0.05; n = 26).

3.3. Temporal trends in Ag concentrations

Intra-site comparisons aimed at analysing the datasets for potential temporal trends at different timescales were performed (i.e. annual, seasonal and monthly; Fig. 3). Significant (p < 0.001, n > 69; 2004–2009 data) inter-annual differences in Ag_D occurred between 2005 and 2009 at LR, PSM and T on the one hand and between 2006 and 2009 at RM and BP sites on the other (p < 0.01 for each paired comparison). Accordingly, Ag_D in the Lot-Garonne River continuum was clearly lowest in 2009. Even if there was no significant seasonal trend (p > 0.05, n > 69), except for the LR site

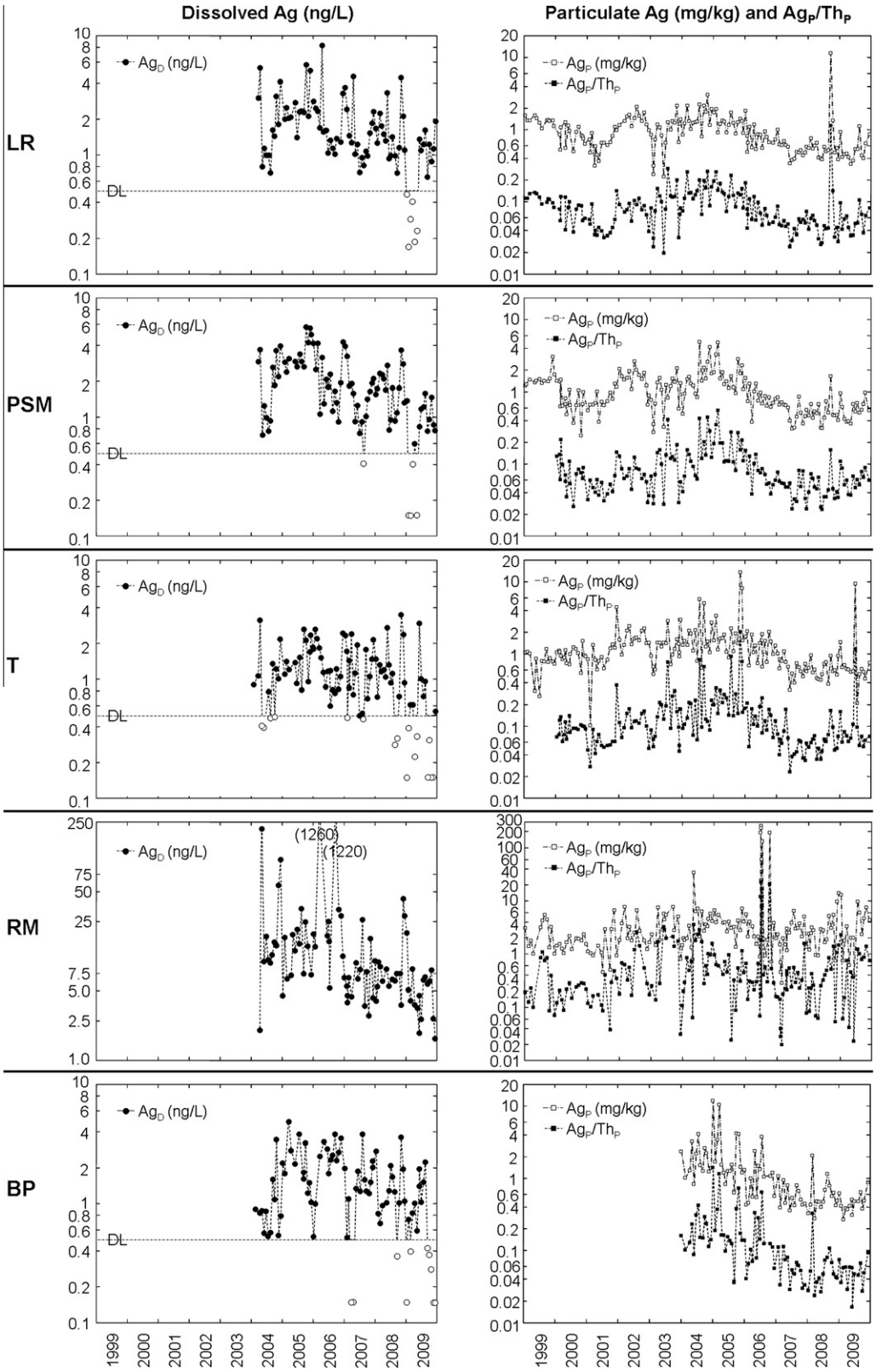

Fig. 2. Dissolved and particulate Ag concentrations over time (1999–2009) at the observation sites La Réole (LR), Port-Sainte-Marie (PSM), Temple (T), Riou-Mort (RM) and Boisse-Penchot (BP). The dashed horizontal line represents detection limit (DL = 3σ of blank values). Open symbols used for Ag_D represent indicative values below DL.

($p < 0.05$, $n = 79$) where Ag_D were lower ($p < 0.05$) in summer than in autumn, the median Ag_D values were lowest in summer at the PSM and T sites, i.e. in the downstream watershed (Fig. 1). In contrast, Ag_D values were lowest in winter for the RM and BP sites in the upstream watershed. No significant trend in Ag_D values occurred at the monthly timescale ($p > 0.05$, $n > 69$).

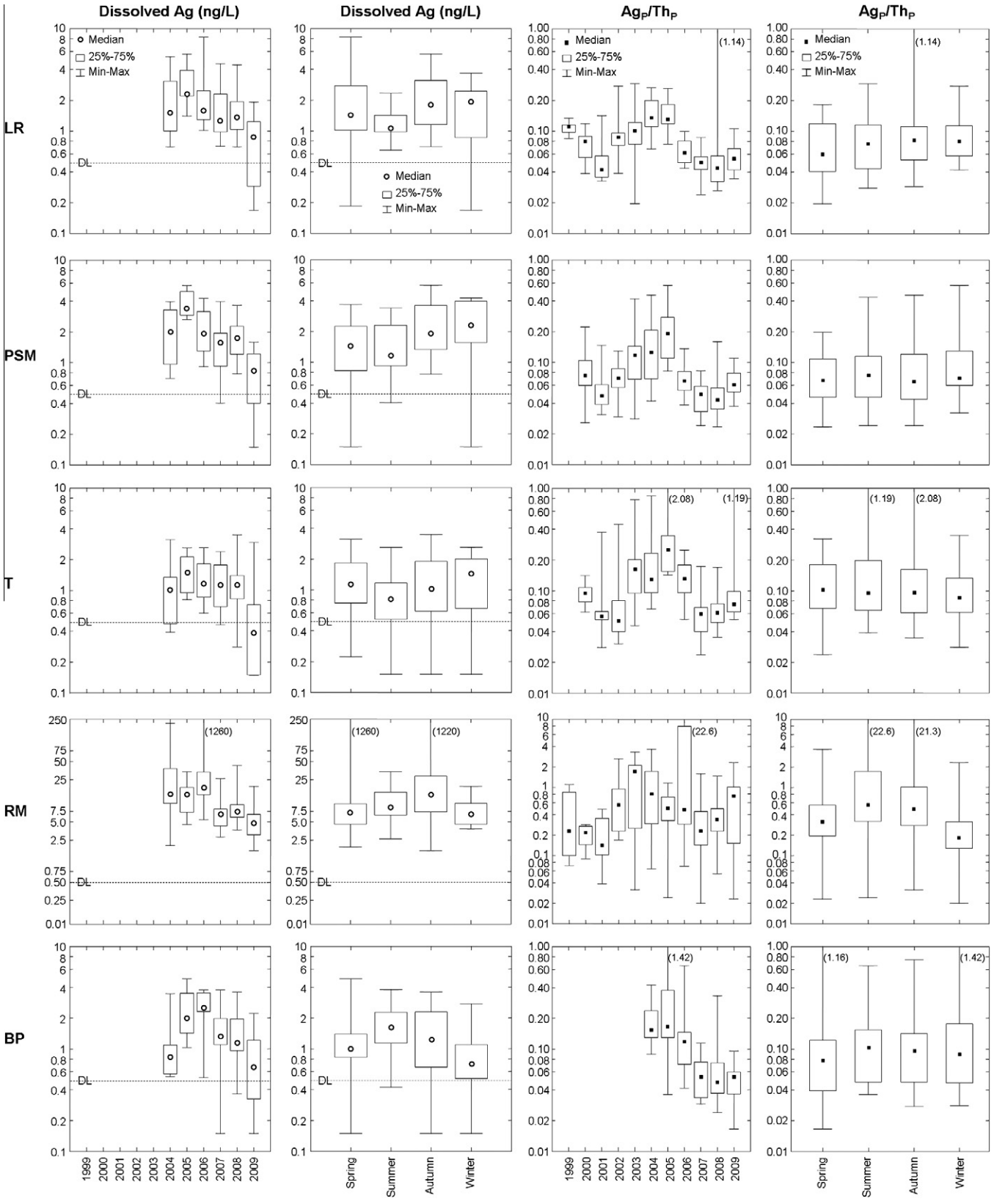

Fig. 3. Dissolved Ag concentrations by year (1st column) and by season (2nd column) and Th_P-normalised Ag_P concentrations by year (3rd column) and by season (4th column) at the different sampling sites. The dashed horizontal line represents detection limit (DL = 3σ of blank values).

Particulate Ag concentrations were Th-normalised prior to analysis of intra-site trends. At site T, Ag_P was lowest during 2001, with values significantly different from those in 2004–2005 ($p < 0.05$, Fig. 1). A similar pattern occurred at PSM, where Ag_P in 2004 was significantly higher than in 2001, 2007 and 2008 ($p < 0.01$) and Ag_P in 2005 was significantly higher than in 2001, 2002 and

2007–2009 ($p < 0.05$). Accordingly, both sites showed minimum Ag_P levels in 2001, and maximum levels in 2004/2005 followed by decreasing values until 2009. The upstream site BP showed a similar pattern for the 2004–2009 period (Fig. 3).

No clear seasonal nor monthly trends in Ag_P occurred at any site, except for the RM site, where concentrations were significantly higher in summer and autumn than in winter and spring ($p < 0.01$). At the monthly timescale, Ag_P at the RM site was significantly ($p < 0.01$) higher in July than in February (not shown).

4. Discussion

4.1. Dissolved Ag concentrations

Dissolved Ag concentrations in <0.2 μm fractions from the Lot-Garonne River system (Fig. 2; Table 2) were similar to those in filter-passing fractions reported for the Sacramento River (San Francisco Bay; <0.45 μm; 0.6–2.6 ng/L; Smith and Flegal, 1993) or Texas rivers, except the Trinity and the downstream Black Fork River (Galveston Bay; <0.45 μm; <0.01–5.7 ng/L; Wen et al., 1997). Concentrations in highly industrialized rivers are up to one hundred times higher (e.g. Quinnipiac River, up to 310 ng/L; Benoit, 1994). The scarce data available in the literature may give a rough overview on Ag_D levels in rivers, but it does not allow systematic comparison of different river systems, e.g. for pollution assessment. Beside limited data quantity, the use of variable filtration cut-offs is an additional problem, because Ag_D in freshwaters is mainly associated with colloids and the measured concentrations decrease with filtration threshold (Wen et al., 1997).

The anomalously high Ag_D concentrations in the Riou-Mort River reaching 1260 ng/L were still much lower than one of the highest Ag concentrations recorded in freshwater downstream of an abandoned mine in the Colorado River (38,000 ng/L; US EPA, 1980), but were consistent with the hypothesis that this zone of former industrial Zn-extraction from sulfide ores (e.g. Audry et al., 2004c) still is a source of Ag_D to the fluvial–estuarine system. Even if the US Environmental Protection Agency has set water quality criteria values for acute Ag_D in fresh water at 3200 ng/L (US EPA, 2002), one cannot exclude that the Ag_D levels observed in the Riou-Mort River induce adverse effects (e.g. decrease of reproductive success) on the local biosphere (Diamond et al., 1990; Eisler, 1996; Hook and Fisher, 2001).

Despite these Ag_D inputs into the Lot-Garonne River system via the polluted Riou-Mort River, the downstream Garonne River (PSM and LR) showed significantly higher Ag_D than the Lot River throughout the 6-a investigated. As Ag is known to be a geochemical tracer of urban wastewater inputs (e.g. Rozan and Hunter, 2001; Sañudo-Wilhelmy and Flegal, 1992) and the population of the Garonne River watershed with the Toulouse agglomeration (~2,720,000 inhabitants; INSEE, 2006) is almost 8-fold higher than that of the Lot River watershed, urban wastewater inputs could account for the observed differences. Assuming more or less constant urban Ag_D, one would expect dilution of urban wastewater by runoff and rainwater (Hornberger et al., 2000; Rozan and Hunter, 2001; Squire et al., 2002) which is consistent with the observed maximum Ag_D concentrations at the studied sites (except for the RM site) during the exceptionally dry year 2005. However, respective negative correlation between discharges and concentrations were not observed at any site, except for the RM site. One cannot exclude that in urban areas, heavy rainfall and runoff induce overflow of sewage treatment plants and remobilise urban dust and sediments, which represent potential additional metal sources to rivers (e.g. Cd, Cu, Pb, Zn; Estèbe et al., 1998). In this case, additional episodic inputs would (at least partly) mask dilution effects and temporarily modify metal distributions between water and suspended particles.

4.2. Particulate silver concentrations and regional geochemical background

The five lowest Ag_P/Th_P ratios observed at each site (except for RM) in the different contrasting watersheds studied were similar and consistently in the range of 0.024–0.028. These values were similar to those in a reservoir sediment core from the upstream Lot River (Marcenac site; $Ag_P/Th_P = 0.027 \pm 0.004$, $n = 45$; Schäfer et al., unpublished data), previously used to establish regional background levels for other elements (e.g. Cd, Zn, Hg, etc.; Audry et al., 2004c; Castelle et al., 2007). Accordingly, the Ag_P/Th_P ratio of 0.026 ($n = 30$) was considered as representative of the regional geochemical background.

The Ag_P in the corresponding SPM samples (0.30–0.35 mg/kg) were within the lowest measured throughout the observation decade (Table 2), but were 3–5-fold higher than the respective values reported for the continental crust ($Ag_P = 0.055$ mg/kg; $Ag_P/Th_P = 0.005$; Wedepohl, 1995; $Ag_P = 0.080$ mg/kg; Taylor and McLennan, 1985). This result confirms that regional geochemical background in SPM and sediments may be clearly different from crustal values due to different mineral composition, the presence of organic matter or background atmospheric inputs, as previously reported for other elements (e.g. Hg; Schäfer et al., 2006).

The Ag_P measured in SPM from the LR site (0.23–4.93 mg/kg; 0.99 ± 0.41 mg/kg), the main fluvial entry of the Gironde Estuary, were similar in magnitude to those reported for the Ag-contaminated San Francisco Bay sediments ("Silver Estuary"; 1977–2003 period: <2.6 mg/kg; Hornberger et al., 2000; Flegal et al., 2007) and clearly higher than those reported for Japanese rivers (0.04–0.28 mg/kg; Zhang et al., 2008). This suggests that Ag_P levels in the Garonne River (which contributed ~75% to particle transport to the Gironde Estuary in 1990–2005; Schäfer et al.; 2002; Masson et al., 2007) and the resulting Ag fluxes are relatively high (see Section 4.4.).

The Ag_P was compared at sites T and PSM, representing the outlets of the Lot River and the upstream/central Garonne River watersheds, respectively (Fig. 1). Minor differences in Ag_P occurred for single years (Table 2, Fig. 1). The observed differences (higher Ag_P/Th_P in the Lot River than in the Garonne River (PSM site) in 2008 and 2009) were mainly due to grain size effects, reflecting the hydrology of the sub-watersheds.

4.3. Temporal trends in Ag_D and Ag_P

Despite the high affinity of dissolved Ag with colloidal macromolecular organic matter (Wen et al., 1997), no significant seasonal variations in Ag_D or Ag_P were observed at any site, except for the RM site. One cannot exclude that the high reactivity of dissolved Ag with particles (Luoma et al., 1995; Smith and Flegal, 1993) masks the expected seasonal variations in Ag_D.

The mean particle/water partition coefficient expressed as Log Kd (where Kd is the Ag_P/Ag_D ratio) was 6.2 (3.9–6.9) at RM site, 6.1 (5.0–6.9) at BP site, 6.2 (5.2–7.2) at T site, 5.7 (5.1–6.8) at PSM site and 5.7 (5.0–7.2) at LR site. Despite the relatively high Ag_D levels in the Riou-Mort River, Ag distribution between the particulate and dissolved phases was rather similar to other sites. However, the minimum particle/water partition coefficient measured at RM site in 2006 (Log Kd = 3.9) suggested a non-achieved equilibrium probably reflecting intense remediation work (transfer and isolation of waste tailings, polluted sediment dredging) during that year.

At the annual timescale, a significant decrease of both Ag_D and Ag_P concentrations were observed between 2005 or 2006

(depending on the site) and 2009. This trend was attributed to increasing discharges during 2005–2009, i.e. dilution effects, rather than a limitation of Ag release into environment (Squire et al., 2002; Flegal et al., 2007). Despite this generally decreasing trend, Ag_P at all the sites studied was still clearly higher (LR: 2-fold; PSM: 2-fold, T: 4-fold; RM: 14-fold) than the estimated background Ag_P of 0.30–0.35 mg/kg.

4.4. Particulate and dissolved Ag Fluxes

The relative contributions of the Garonne and the Dordogne + Isle Rivers (2000–2002) to gross freshwater (59:41) and SPM (74:26) fluxes to the Gironde Estuary were in good agreement with those reported for the previous decade (e.g. 1990–1999, Schäfer et al., 2002). Annual gross Ag_P fluxes to the Gironde Estuary via the Garonne River (0.659–1.63 t/a), the Dordogne River (0.295–0.382 t/a) and the Isle River (0.022–0.034 t/a) reflect the differences in SPM transport by these contrasting rivers (e.g. Schäfer et al., 2002). The sum of the relative contributions by the Dordogne and Isle Rivers to the annual total (Garonne + Dordogne + Isle) gross Ag_P flux to the Gironde Estuary was 17–37%. Given that the Garonne River clearly is the main fluvial entry of the Gironde Estuary, the high resolution observation on SPM transport has been focused on the Garonne River and its sub-watersheds since 2003 (Table 2).

Although the Riou-Mort River only contributed 1.2 ± 0.2% to the water flux of the upstream Lot River (sum BP + RM), it accounted for the equivalent of 14 ± 8% (6–28%) of the annual Ag_D fluxes in the Lot River during 2004–2009.

During 2004–2009, the contribution of the Riou-Mort River to SPM (8–31%; mean: 17 ± 9%) and Ag_P fluxes (7–85%; 43 ± 29%) in the upstream Lot River (sum BP + RM) was directly related to hydrology. The data suggests that the Riou-Mort contributes relatively more SPM and Ag_P fluxes during high discharge, probably reflecting erosion of Ag-rich tailings from the former ore treatment area as previously reported for other elements (e.g. Cd, As, etc.; Coynel et al., 2007a, 2009; Masson et al., 2007). The sum of water and Ag_D fluxes at the BP and RM sites represented the equivalent of 73 ± 8% and 90 ± 33% of the respective fluxes at the T site. This suggests that (i) the upstream watershed of the Lot River contributes the major part of Ag_D and (ii) internal reactivity of the Lot River may shift incoming Ag_D from the dissolved to the particulate phase as previously observed for Cd and Zn (e.g. Coynel et al., 2007b). Mass balance suggests that the estimated additional water input in the central/downstream Lot River watershed has a theoretical Ag_D of ~0.83 ng/L (i.e. 0.9 kg/a of Ag; Fig. 3), which is consistent with the range of Ag_D in the Garonne River at PSM (1.96 ± 1.25 ng/L; Table 2).

The sums of SPM and Ag_P fluxes at sites RM and BP were equivalent to 77 ± 81% and 89 ± 72% of the respective fluxes at the outlet of the Lot River watershed (T site), suggesting that up to 83,200 t/a of sediment and 0.055 t/a of Ag have been removed downstream from the Riou-Mort River confluence during 2004–2009 (i.e. Ag_P = 0.66 mg/kg; Fig. 3). This remobilisation occurred mainly (77% for SPM and 63% for Ag_P) after the two very dry years 2005 and 2006, and may be at least partly due to floods (Coynel et al., 2007a). During the 11-a period studied, the upstream/central Garonne River watershed (PSM site) provided the major parts of water (72 ± 5%) and SPM (77 ± 16%) fluxes of the Garonne River (sum PSM + T). The relative contribution of the Lot River ranged from 2% (SPM and Ag_P) in 2006 to 62% and 72% for SPM and Ag_P, respectively, in 2001, i.e. the only year when the relative contributions of the Lot River were higher than those of the Garonne River. This anomaly was attributed to lock construction in the Lot River that induced suspension of old, heavily polluted sediments (38,000–113,000 t of sediment and 0.045–0.135 t Ag; estimated from mean Ag_P in 2001) and strongly modified the annual metal budgets of the Lot River for many metals (e.g. Cd, Zn; Audry et al., 2004b). Although the Riou-Mort River showed the highest Ag_D and Ag_P and is an important Ag point source to the Lot River, its contribution to fluvial gross Ag fluxes to the Gironde Estuary via the Garonne River (LR site) was rather low, ranging from 1% (in 2004) to 11% (in 2008 and 2009). This result suggests that other sources that are probably not related with former mining or ore treatment contribute the major part of Ag inputs to the Gironde fluvial–estuarine system.

Although concentration (and if possible speciation) data is useful for local impact studies or source identification, the present dataset highlights the importance of reliable flux estimates covering a number of contrasting hydrological years for source identification and assessment of contaminant transport at the watershed scale. In fact, the highest Ag_P and Ag_D concentrations occurred in 2005, i.e. the year when particulate and dissolved Ag fluxes at the LR site, respectively, were the lowest and the second lowest of the observation period (Fig. 2).

Comparing dissolved Ag fluxes (0.008–0.041 t/a) with particulate Ag fluxes (0.31–2.44 t/a) showed that particle transport accounted for 96 ± 2% of total Ag fluxes to the Gironde Estuary at the LR site. Accordingly, Ag inputs to the estuary depend on SPM fluxes which are highly variable. For example, the December 2003 flood carried ~75% of the annual SPM fluxes of the Lot River in less than 10 days (Coynel et al., 2007a). Furthermore, constructions affecting riverbed morphology, floods and flood management may induce erosion of historically polluted reservoir sediments and mobilize additional metal stocks (e.g. Audry et al., 2004b,c; Coynel et al., 2007a; Rozan and Hunter, 2001).

Information on the Ag cycle in the aquatic environment is very scarce and to the authors' knowledge, only few studies have reported on Ag fluxes in rivers. Turekian and Scott (1967) estimated fluvial Ag transport in the Susquehanna River at 45 t/a involving very high Ag_P levels (up to 25 mg/kg). Smith and Flegal (1993) estimated the annual input of Ag to the San Francisco Bay Estuary from the average Ag_D (1.62 ng/L, n = 3) in the Sacramento River and the median freshwater discharge (230 m^3/s), at 12 kg/a. Rozan and Hunter (2001) calculated a total mass of Ag carried by the Quinnipiac River of 105 kg/a based on mid-1994 to mid-1995 data. More recently, Zhang et al. (2008) roughly estimated dissolved Ag flux to the Tokyo Bay at 83 kg/a, using mean Ag_D (7.56 ng/L) and discharge (352 m^3/s) values and atmospheric inputs of 15 kg/a.

In the Gironde Estuary watershed, intensive wine (e.g. Bordeaux area) and fruit production have led to the setup of ~210 cloud-seeding devices (particle generators; ANELFA, 2010) to prevent hailstorms. In case of alert (network), these devices work for 10 h and inject ~18.5 kg/day of AgI into the atmosphere. In the vicinity of AgI ground-based cloud-seeding generators, measured Ag concentrations may reach up to 10,000 ng/m^3 in air and 10–300 ng/L in rain water with maximum values as high as ~6000 ng/L (Wisniewski and Sax, 1979; US EPA, 1980; US PHS, 1990). In the USA in 1978, the estimated Ag release due to cloud-seeding was 3 t of which 1 t entered to the aquatic environment (US PHS, 1990). In the Gironde Estuary watershed, 12–25 hailstorm alerts per year may release 100–210 kg of Ag into the atmosphere. Assuming that ~30% (US PHS, 1990) reach the rivers, the atmospheric Ag input by cloud-seeding would be 0.75–8 times the Ag_D fluxes observed at the LR site. Given the very high particle affinity of Ag (see above), one would expect the major part of these atmospheric Ag inputs to adsorb onto SPM as long as they enter the freshwater reaches of the fluvial–estuarine system. Accordingly, it would be expected that Cl^- complexation in the salinity gradient (Barriada et al., 2007; Cowan et al., 1985) would stabilize nearly all the cloud-seeding-derived Ag which enters the fluvial–estuarine system in the dissolved phase, i.e. as potentially bioavailable Ag (Bell and Kramer, 1999; Luoma et al., 1995; Reinfelder and Chang, 1999).

4.5. Anthropogenic component and specific fluxes

The anthropogenic component in Ag_P fluxes was estimated from the differences in Ag/Th ratios measured in the samples and those attributed to geochemical background (see Section 4.2.). At the LR site, the anthropogenic component in total Ag_P fluxes varied from ~53% in 2001 to ~81% in 2005 followed by a decrease to a minimum of ~36% in 2008 (Table 2). Similar patterns were observed for each site, except for the RM site, where the anthropogenic part of Ag_P fluxes was always higher, i.e. ranging from 81% (2004) to 96% (2009).

To compare the contrasting sub-watersheds of the Gironde fluvial–estuarine system, surface- and population-specific anthropogenic Ag_P fluxes were calculated by normalising the estimated anthropogenic Ag_P fluxes at the different sites by the respective watershed surface (km^2) and inhabitant numbers (Table 2; Fig. 4). At the LR site, integrating fluxes from the Garonne River watershed, the mean specific Ag_P fluxes were 15.0 ± 10.3 g/km^2/a and 0.24 ± 0.16 g/person/a, whereas they were 281 ± 226 g/km^2/a and 2.5 ± 2.0 g/person/a for the Riou-Mort site.

In the San Francisco Bay, the discharges of Ag from one wastewater treatment facility (POTW) and from the combined POTW discharges from the surrounding urban area (Silicon Valley) were estimated at 27 and 20 mg Ag/person in 2007 (P. Bobel, Palo Alto Environmental Protection Agency in Luoma, 2008). Transposing these specific Ag discharges to the Gironde Estuary watershed, the wastewater treatment facilities of the Bordeaux and Toulouse urban areas (~2,100,000 inhabitants; Fig. 1) would release 42–57 kg/a of Ag into the fluvial–estuarine system (Fig. 4). Comparing these estimated annual Ag inputs by more than two million people with the estimated cloud-seeding Ag_D input into the river during only 12–25 days per year showed that the latter activity must be taken into account when establishing Ag budgets, especially in agricultural watersheds.

Accordingly, the specific fluxes obtained for the different sub-watersheds reflect and highlight different intensities in Ag contamination (Fig. 4). Similar studies on other fluvial–estuarine watersheds at the national (e.g. the Seine, Loire and Adour Rivers) and international scales would allow comparing specific fluxes to better understand the relationship between fluvial Ag transport and contamination in coastal seafood.

5. Conclusion

To the authors' knowledge, this is the first study reporting on Ag fluxes in rivers obtained from long-term, high sampling frequency observation.

(1) The results show that (i) Ag transport in rivers almost totally occurs in the particulate phase and that for this reason (ii) it is highly variable and discharge-dependent. Accordingly, reliable Ag flux estimates require adapted sampling frequencies and observation including contrasting hydrological years for SPM mass balances.

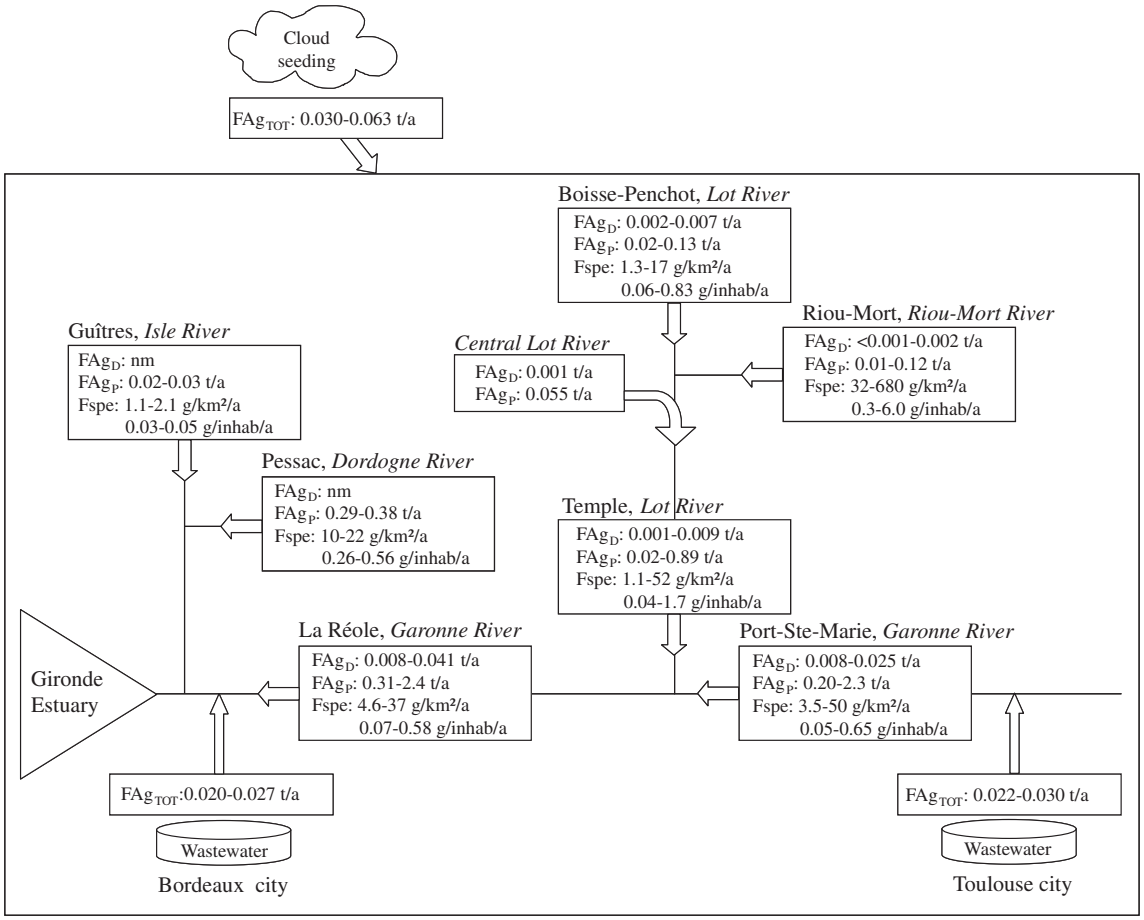

Fig. 4. Minimum and maximum dissolved (F_{AgD}) and particulate (F_{AgP}) Ag fluxes and surface and population-specific fluxes (F_{spe}) at each sampling site. Specific fluxes were calculated from anthropogenic Ag_P fluxes. Additional total Ag (F_{AgTOT}) inputs to river water from wastewater (Bordeaux and Toulouse cities) and cloud-seeding are shown. Sampling period: 1999–2009 for F_{AgP} at all sites except for Boisse-Penchot (2004–2009) and for Guîtres and Pessac (2000–2002); 2004–2009 for FAg_D at all sites. nm: not measured.

(2) The geochemical background of Ag in SPM from the studied system was expressed as Ag/Th = 0.026, which accounted for potential grain size effects for silicate rocks. There is to date no comparable data in the literature for other river systems.
(3) The anthropogenic components in particulate Ag fluxes (~24–90%) were highly variable from 1 year to another and depended on hydrology, i.e. showed similar patterns in the different regional sub-watersheds studied.
(4) The historically polluted Riou-Mort sub-watershed showed clearly higher Ag_D and Ag_P levels and specific (surface and population) Ag_P fluxes than the other sub-watersheds. Although there is evidence that the residues of former sulfide ore treatment in this small area are still a Ag source to the fluvial–estuarine system, their contribution to total Ag fluxes to the Gironde Estuary is small (<11%).
(5) This data clearly suggests that other sources such as rock weathering, urban wastewater inputs, resuspension of contaminated sediments and cloud-seeding mainly account for the observed Ag transport.

Further work is necessary to quantify direct Ag fluxes from the Bordeaux urban agglomeration to the Gironde Estuary and to complete the Ag budget of this major European estuary, especially with respect to strongly increasing use of nanosilver in many technical domains.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge Dr. E. Maneux, G. Lavaux and J.P. Lissalde for sampling assistance, contribution to field work and analytical support. This study was supported by 'la Région Aquitaine', the 'Agence de l'Eau Adour-Garonne' and the 'Agence Nationale de Recherche' (ANR-07-VULN-03).

References

ANELFA. <http://www.anelfa.asso.fr/> (accessed in 2010).
Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2004a. Cadmium transport in the Lot-Garonne River system (France)—temporal variability and a model for flux estimation. Sci. Total Environ. 319, 197–213.
Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004b. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot-Garonne fluvial system (France). Appl. Geochem. 19, 769–786.
Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.-M., 2004c. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). Environ. Pollut. 132, 413–426.
Barriada, J.L., Tappin, A.D., Evans, E.H., Achterberg, E.P., 2007. Dissolved silver measurements in seawater. Trends Anal. Chem. 26, 809–817.
Baudrimont, M., Schäfer, J., Marie, V., Maury-Brachet, R., Bossy, C., Boudou, A., Blanc, G., 2005. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Médoc salt marshes (Gironde estuary, France). Sci. Total Environ. 337, 265–280.
Bell, R.A., Kramer, J.R., 1999. Structural chemistry and geochemistry of silver–sulfur compounds: critical review. Environ. Toxicol. Chem. 18, 9–22.
Benn, T.M., Westerhoff, P., 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. Environ. Sci. Technol. 42, 4133–4139.
Benoit, G., 1994. Clean technique measurement of Pb, Ag, and Cd in freshwater: a redefinition of metal pollution. Environ. Sci. Technol. 28, 1987–1991.
Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot-Garonne fluvial system (France). Hydrobiologia 410, 331–341.
Blaser, S.A., Scheringer, M., MacLeod, M., Hungerbuhler, K., 2008. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. Sci. Total Environ. 390, 396–409.
Boutier, B., 1981. Synthèse des résultats de la surveillance des micropolluants dans la matière vivante. Ministère de l'Environnement. Bull. du Réseau National d'Observation 17, 115–174.
Breuer, E., Sañudo-Wilhelmy, S.A., Aller, R.C., 1999. Trace metals and dissolved organic carbon in an estuary with restricted river flow and a brown tide bloom. Estuaries Coasts 22, 603–615.
Castellano, J.J., Shafii, S.M., Ko, F., Donate, G., Wright, T.E., Mannari, R.J., Payne, W.G., Smith, J.D., Robson, M.C., 2007. Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. Int. Wound J. 4, 114–122.
Castelle, S., Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Etcheber, H., Lissalde, J.-P., 2007. 50-year record and solid state speciation of mercury in natural and contaminated reservoir sediment. Appl. Geochem. 22, 1359–1370.
Chiffoleau, J.F., Auger, D., Roux, N., Rozuel, E., Santini, A., 2005. Distribution of silver in mussels and oysters along the French coasts: data from the national monitoring program. Mar. Pollut. Bull. 50, 1719–1723.
Choi, O., Deng, K.K., Kim, N.-J., Ross Jr., L., Surampalli, R.Y., Hu, Z., 2008. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. Water Res. 42, 3066–3074.
Claisse, D., 1989. Chemical contamination of the French coasts. The results of a ten-year mussel watch. Mar. Pollut. Bull. 20, 523–528.
Cowan, C.E., Jenne, E.A., Crecelius, E.A., 1985. Silver speciation in seawater: the importance of sulphide and organic complexes. In: Sigleo, A.C., Hattori, A. (Eds.), Marine and Estuarine Geochemistry. Lewis Publishers Inc., Michigan, pp. 285–303.
Coynel, A., Schäfer, J., Hurtrez, J.-E., Dumas, J., Etcheber, H., Blanc, G., 2004. Sampling frequency and accuracy of SPM flux estimates in two contrasted drainage basins. Sci. Total Environ. 330, 233–247.
Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007a. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. Appl. Geochem. 22, 821–836.
Coynel, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Girardot, N., Blanc, G., 2007b. Groundwater contributions to metal transport in a small river affected by mining and smelting waste. Water Res. 41, 3420–3428.
Coynel, A., Blanc, G., Marache, A., Schäfer, J., Dabrin, A., Maneux, E., Bossy, C., Masson, M., Lavaux, G., 2009. Assessment of metal contamination in a small mining- and smelting-affected watershed: high resolution monitoring coupled with spatial analysis by GIS. J. Environ. Monitor. 11, 962–976.
Davis, J.A., Leckie, J.O., 1978. Effect of adsorbed complexing ligands on trace metal uptake by hydrous oxides. Environ. Sci. Technol. 12, 1309–1315.
Diamond, J.M., Mackler, D.G., Collins, M., Gruber, D., 1990. Derivation of a freshwater silver criteria for the New River, Virginia, using representative species. Environ. Toxicol. Chem. 9, 1425–1434.
Eisler, R., 1996. Silver hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Natl. Biol. Ser. Rep. 32.
Estèbe, A., Mouchel, J.-M., Thévenot, D.R., 1998. Urban runoff impacts on particulate metal concentrations in River Seine. Water Air Soil Pollut. 108, 83–105.
Fisher, N.S., Bohé, M., Teyssié, J.-L., 1984. Accumulation and toxicity of Cd, Zn, Ag, and Hg in four marine phytoplankters. Mar. Ecol. Prog. Ser. 18, 201–213.
Flegal, A.R., Conaway, C.H., Scelfo, G.M., Hibdon, S.H., Sañudo-Wilhelmy, S.A., 2005. Factors influencing measurements of decadal variations in metal contamination in San Francisco Bay, California. Ecotoxicology 14, 1–16.
Flegal, A.R., Brown, C.L., Squire, S., Ross, J.R.M., Scelfo, G.M., Hibdon, S., 2007. Spatial and temporal variations in silver contamination and toxicity in San Francisco Bay. Environ. Res. 105, 34–52.
Forbes, R.J., 1953. On the Origin of Alchemy. Chymia 4, 1–11.
Grousset, F.E., Jouanneau, J.M., Castaing, P., Lavaux, G., Latouche, C., 1999. A 70 year record of contamination from industrial activity along the Garonne River and its tributaries (SW France). Estuar. Coast. Shelf Sci. 48, 401–414.
Hook, S.E., Fisher, N.S., 2001. Sublethal effects of silver in zooplankton: importance of exposure pathways and implications for toxicity testing. Environ. Toxicol. Chem. 20, 568–574.
Hornberger, M.I., Luoma, S.N., Cain, D.J., Parchaso, F., Brown, C.L., Bouse, R.M., Wellise, C., Thompson, J.K., 2000. Linkage of bioaccumulation and biological effects to changes in pollutant loads in South San Francisco Bay. Environ. Sci. Technol. 34, 2401–2409.
INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques), 2006. <http://www.insee.fr/fr/themes/detail.asp?ref_id=ir-sd2006&page=irweb/sd2006/dd/sd2006_population.htm> (accessed in 2010).
Jones, K.C., 1986. The distribution and partitioning of silver and other heavy metals in sediments associated with an acid mine drainage stream. Environ. Pollut. Ser. B Chem. Phys. 12, 249–263.
Kalnejais, L.H., Martin, W.R., Bothner, M.H., 2010. The release of dissolved nutrients and metals from coastal sediments due to resuspension. Mar. Chem. 121, 224–235.
Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.-H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.-Y., Kim, Y.-K., Lee, Y.-S., Jeong, D.H., Cho, M.-H., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine 3, 95–101.
Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Schäfer, J., Blanc, G., 2000. Etude comparative de deux méthodes de récupération des MES: Pièges à particules et pompage-centrifugation, Technical Report. Agence de l'Eau Adour-Garonne, Toulouse, France.
Larrose, A., Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Masse, L., Maneux, E., 2010. Assessing the current state of the Gironde estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment. Appl. Geochem. 25, 1912–1923.
Luoma, S.N., 2008. Silver Nanotechnologies and the Environment: Old Problems or New Challenges? Project on Emerging Nanotechnologies, The Pew Charitable Trusts.
Luoma, S.N., Ho, Y.B., Bryan, G.W., 1995. Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. Mar. Pollut. Bull. 31, 44–54.
Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes to the Gironde Estuary *via* its major tributaries. Sci. Total Environ. 370, 133–146.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Anschutz, P., 2007. Seasonal variations and annual fluxes of arsenic in the Garonne, Dordogne and Isle Rivers, France. Sci. Total Environ. 373, 196–207.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Dabrin, A., Castelle, S., Lavaux, G., 2009. Behavior of arsenic and antimony in the surface freshwater reaches of a highly turbid estuary, the Gironde Estuary, France. Appl. Geochem. 24, 1747–1756.

Meybeck, M., Ragu, A., 1996. River Discharges to the Oceans. An Assessment of Suspended Solids, Major Ions, and Nutrients. Environment Information and Assessment Rpt, Nairobi, UNEP.

Meybeck, M., Pasco, A., Ragu, A., 1994. Etablissement des flux polluants dans les rivières: pourquoi, comment et à quel prix. In: 4ème Rencontres de l'Agence Régionale pour l'Environnement. Provence-Alpes-Côte d'Azur. Colloque scientifique sur les charges polluantes véhiculées par les fleuves et les rivières en Méditerranée. Collection 1991–1992–1993.

Parra, M., Trouky, H., Jouanneau, J.-M., Grousset, F., Latouche, C., Castaing, P., 1998. Isotopic study (Sr–Nd) of the origin of Holocene fine-grained deposits on the Atlantic littoral, SW France. Oceanol. Acta 21, 631–644.

Probst, J.L., Tardy, I., 1985. Fluctuations hydroclimatiques du Bassin d'Aquitaine lors des 70 dernières années. Rev Géol Dynam Et Géo Phys, 26 Paris.

Rai, M., Yadav, A., Gade, A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol. Adv. 27, 76–83.

Ratte, H.T., 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. Environ. Toxicol. Chem. 18, 89–108.

Reinfelder, J.R., Chang, S.I., 1999. Speciation and microalgal bioavailability of inorganic silver. Environ. Sci. Technol. 33, 1860–1863.

Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., 1997. Pore-water silver concentration gradients and benthic fluxes from contaminated sediments of San Francisco Bay, California, USA. Mar. Chem. 56, 15–26.

Rozan, T.F., Hunter, K.S., 2001. Effects of discharge on silver loading and transport in the Quinnipiac River, Connecticut. Sci. Total Environ. 279, 195–205.

Sañudo-Wilhelmy, S.A., Flegal, A.R., 1992. Anthropogenic silver in the Southern California Bight: a new tracer of sewage in coastal waters. Environ. Sci. Technol. 26, 2147–2151.

Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. Sci. Total Environ. 298, 103–118.

Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. Mar. Chem. 79, 229–242.

Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Cossa, D., Bossy, C., 2006. Mercury in the Lot-Garonne River system (France): sources, fluxes and anthropogenic component. Appl. Geochem. 21, 515–527.

Shafer, M.M., Overdier, J.T., Armstrong, D.E., 1999. Removal, partitioning and fate of silver and other metals in wastewater treatment plants and effluent-receiving streams. Environ. Toxicol. Chem. 17, 630–641.

Smith, I.C., Carson, B.L., 1977. Trace Metals in the Environment: Silver, vol. 2. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich.

Smith, G.J., Flegal, A.R., 1993. Silver in San Francisco Bay estuarine waters. Estuaries Coasts 16, 547–558.

Squire, S., Selfo, G.M., Revenaugh, J., Flegal, A.R., 2002. Decadal trends of silver and lead contamination in San Francisco Bay surface waters. Environ. Sci. Technol. 36, 2379–2386.

Tappin, A.D., Barriada, J.L., Braungardt, C.B., Evans, E.H., Patey, M.D., Achterberg, E.P., 2010. Dissolved silver in European estuarine and coastal waters. Water Res. 44, 4204–4216.

Taylor, S.R., McLennan, S.M., 1985. The Continental Crust: Its Composition and Evolution. Blackwell, Oxford.

Turekian, K.K., Scott, M., 1967. Concentrations of chromium, silver, molybdenum, nickel, cobalt and manganese in suspended material in streams. Environ. Sci. Technol. 1, 940–942.

US Environmental Protection Agency (EPA), 1980. Ambient Water Quality Criteria for Silver. US Environmental Protection Agency Report 440/5-80-071.

US Environmental Protection Agency (EPA), 2002. National Recommended Water Quality Criteria: 2002. EPA 882-R-02-047. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC. <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/wqcriteria.html>.

US Public Health Service (PHS), 1990. Toxicological Profile for Silver. Agency for Toxic Substances and Disease Registry TP-90-24.

Van Calsteren, P., Thomas, L., 2006. Uranium-series dating applications in natural environmental science. Earth Sci. Rev. 75, 155–175.

Webb, B.W., Phillips, J.M., Walling, D.E., Littlewood, I.G., Watts, C., Leeks, G.J.L., 1997. Load estimation methodologies for British river and their relevance to the LOIS RACS (R) program. Sci. Total Environ. 194 (195), 379–389.

Wedepohl, K.H., 1995. The composition of the continental crust. Geochim. Cosmochim. Acta 59, 1217–1232.

Wen, L.-S., Santschi, P.H., Gill, G.A., Paternostro, C.L., Lehman, R.D., 1997. Colloidal and particulate silver in river and estuarine water of Texas. Environ. Sci. Technol. 31, 723–731.

Wisniewski, J., Sax, R.I., 1979. Silver concentration in rainwater from seeded and nonseeded Florida Cumuli: 1973–1975 results. J. Appl. Meteorol. 18, 1044–1055.

Zhang, Y., Obata, H., Gamo, T., 2008. Silver in Tokyo Bay estuarine waters and Japanese rivers. J. Oceanog. 64, 259–265.

4.3. Conclusion

Les objectifs de ce chapitre étaient de :

1. déterminer la variabilité saisonnière et annuelle des concentrations en Ag_D et Ag_P dans les différents sous bassin versant de l'estuaire de la Gironde,
2. quantifier leurs contributions aux apports en Ag_D et Ag_P à l'estuaire (i.e. quantifier les flux en Ag),
3. déterminer l'importance du transport particulaire et dissous de Ag,
4. distinguer la part naturelle des apports en Ag_P (i.e. liée à l'érosion) de celle anthropique.

En réponse au premier objectif :

- ✓ les **concentrations en Ag_D et Ag_P** dans l'ensemble des rivières étudiées (Garonne, Lot, Dordogne et Isle) varient entre **<0,5 ng/l et 5,7 ng/l et de 0,13 à 14 mg/kg**, **exceptées pour le Riou-Mort**, drainant le site de Decazeville (source de pollution polymétallique), où les concentrations atteignent **1260 ng/l et 261 mg/kg**,

- ✓ **aucune variabilité saisonnière** n'a été mise en évidence ni pour Ag_D (2004-2009) ni pour Ag_P (1999-2009). La diminution des concentrations entre les années 2005-2006 et 2009 correspond à une **dilution liée à l'hydrologie** plutôt qu'à une **diminution des rejets en Ag**.

Les apports fluviaux en Ag_D et Ag_P ont été quantifiés à haute fréquence et en **accord avec la variabilité naturelle des concentrations des MES et des débits** sur une décennie (Coynel et al., 2004), constituant à notre connaissance **la première base de données mondiale des flux en Ag**. L'estimation des flux en Ag_D et Ag_P dans les différents sous bassins versants (**second objectif**) nous permet de conclure que :

- ✓ **le transport de Ag est essentiellement lié à la phase particulaire** (de 73 à ~100%) pour l'ensemble du système fluvial étudié, il est donc fortement dépendant de l'hydrologie.

- ✓ la Garonne (mesurés à La Réole) assure 63 à 83% du transport (flux brut) en Ag dans l'estuaire de la Gironde, soit 0,008 à 0,041 t/an pour Ag_D et de 0,306 à 2,44 t/an pour Ag_P. Ainsi, **96±2%** du flux brut de Ag est assuré *via* la **phase particulaire** sur la période 2004-2009 (**3ème objectif**). Ce résultat est comparable à celui mesuré dans la rivière du Saint Laurent (Canada) où les flux moyen de Ag calculé pour les années 2000-2001 (Ag_D : 0,62 t/an ; Ag_P : 4,3 t/an) indiquent que le transport de Ag est assuré à 87% par la phase particulaire (Gobeil et al., 2005).

- ✓ malgré des concentrations en Ag_D et Ag_P supérieures, la contribution du Riou-Mort aux flux de Ag entrant dans l'estuaire par la Garonne reste inférieure à 6% pour Ag_D et 11% pour Ag_P, **minimisant relativement l'impact des terrains encore actuellement pollués du bassin de Decazeville sur l'ensemble du système Lot–Garonne–Gironde**.

Dans le contexte de la pollution polymétallique historique de l'estuaire de la Gironde et des sols naturellement riches en métaux constituant son bassin versant**, une autre originalité de ce travail a été d'estimer la part naturelle des flux en Ag_P de celle anthropique dans les différents sous bassins versants de cet estuaire** (**4ème objectif**). Ainsi, nous avons mis en évidence que :

- ✓ **de 20 à 65% (soit de 0,057 à 0,817 t/an) des apports en Ag_P par la Garonne sont liés à la composition naturelle des particules (i.e. bruit de fond géochimique).** Cette part naturelle a été déterminée à partir du bruit de fond géochimique régional défini par le rapport Ag_P/Th_P=0,026 (i.e. affranchi de l'effet de la granulométrie). Le flux de Ag_P dépend du transport de particules, c'est-à-dire de l'érosion au sens large, comprenant à la fois l'érosion naturelle (facteurs hydrologique et éolien) et l'érosion induite par des activités anthropiques comme les travaux, l'entretien ou la gestion du système fluvial. Toutefois, le facteur hydrologique contrôle la contribution de la part naturelle de Ag au flux particulaire total sur la période 1999-2009. Sa contribution est maximale pour les années humides (e.g. 64% en 2008 à La Réole) et minimale les années sèches (e.g. 19% en 2005 à La Réole).

- ✓ la **contribution du flux en Ag_P d'origine anthropique au flux total en Ag_P de la Garonne (à La Réole) varie de 35 à 80% (**par complément avec la part naturelle**)**.

Elle s'étend dans les différents sous bassins versants de 24 à 90% alors qu'elle est **systématiquement dominante** dans le bassin **du Riou-Mort (81 à 99%).**

- ✓ **les rejets en Ag par les stations d'épuration des villes de Toulouse et de Bordeaux (~2,1 millions d'habitants) sont estimés à 0,042-0,057 t/an**, soit d'une quantité égale jusqu'à l'équivalent de 7 fois le flux en Ag_D de la Garonne, et de 2 à 18% du flux annuel en Ag total sur la dernière décennie. Comparativement, la station d'épuration de Montréal (1,8 millions d'habitants) qui traite aussi des eaux industrielle rejette 0,10 t/an pour Ag_D et 1,12 t/an pour Ag_P, soit 25% du flux de la rivière St. Laurent en Ag (Gobeil et al., 2005).

- ✓ **0,030-0,063 t/an des rejets atmosphériques de Ag** par les agriculteurs luttant contre les orages de grêle sur le bassin versant du système Garonne–Dordogne–Gironde **atteignent le système aquatique** (Fig. 4.1).

- ✓ Dans l'ensemble du système Dordogne–Isle–Garonne–Lot–Riou-Mort, les flux anthropiques spécifiques en Ag_P varient de **1,14 à 682 g/km²/an** et de **0,028 à 6,05 g/hab/an.** Le bassin du Riou-Mort présente les moyennes les plus élevées avec 281±226 g/km²/an et 2,5±2,0 g/hab/an, alors que le basssin versant de la Garonne (La Réole) apporte 15±10 g/km²/an et 0,24±0,16 g/hab/an. En comparaison, les stations de traitement des eaux de San Francisco (~7,2 millions d'habitants) et de la Silicone Valley rejetaient de 0,020 à 0,027 g/hab/an en 2007 (Luoma, 2008) après un traitement qui élimine 95% de Ag, soit une quantité dans les eaux brutes entrantes de 0,40 à 0,54 g/hab/an.

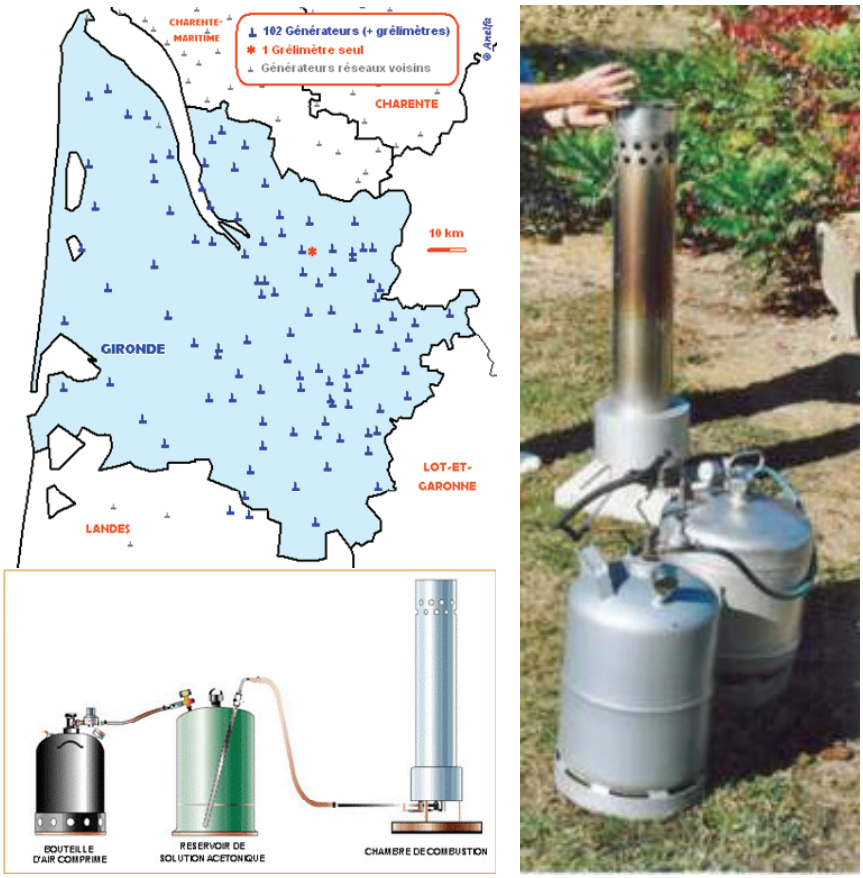

Figure 4.1. *Distribution des dispositifs utilisés pour l'ensemencement des nuages par iodure d'argent dans le département de la Gironde (source ANELFA, Association Nationale d'Etude et de Lutte contre les Fléaux atmosphériques).*

Pour conclure, **la contribution des apports anthropiques dans le bassin versant de la Garonne implique d'autres sources que la seule source polymétallique du bassin de Decazeville pour la période 1999-2009**. Afin de permettre une meilleure gestion des apports en Ag à l'estuaire et à la zone côtière, il sera important de caractériser ces sources dans l'avenir. De plus, les flux de Ag déterminés pour la Garonne au niveau de la Réole correspondent à l'apport fluvial et ne prennent pas en compte les apports de la ville de Bordeaux (i.e. en aval de la limite de marée dynamique). La source urbaine qui se rajoute à la pollution historique venant de l'amont et le flux de Ag rejeté *via* les eaux usées traitées devront être documentés réellement, notamment dans le contexte actuel du développement des utilisations de Ag.

Chapitre 5

Réactivité intra-estuarienne de Ag et exportation vers la zone côtière

5.1. Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons déterminé que 96 ± 2% des apports fluviaux en Ag à l'estuaire *via* la Garonne étaient associés à la phase particulaire sur la période 2004-2009. Au regard des très fortes concentrations en Ag dans les huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde (cf. Chap. 3) et considérant que la voie directe est la voie majoritaire d'accumulation de l'huître *Crassostrea gigas* (Ettajani et al., 1992 ; Martoja et al., 1988), la question du comportement de Ag dans cette zone de transition aux forts gradients géochimiques se pose alors.

Les objectifs de ce chapitre sont :

- ✓ premièrement, **d'étudier le comportement de Ag** en relation avec les gradients de turbidité et de salinité dans l'estuaire salin ceci afin **d'estimer la pression d'exposition** intra estuarienne,
- ✓ deuxièmement, de **calculer les flux sortant (flux nets) en Ag_D** traduisant l'impact potentiel du panache de l'estuaire de la Gironde sur les écosystèmes adjacents comme la Baie de Marennes Oléron,
- ✓ troisièmement, de **comparer les flux entrant et sortant** dans le but d'identifier le rôle de l'estuaire comme source ou puits pour ce métal.

Pour cela, trois profils longitudinaux des eaux de surface dans le gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde ont été réalisés à bord du Côte de la Manche en période de fort débit (avril 2008, Q=2 300 m^3/s) et en période de débit moyen (750 m^3/s en mars et 730 m^3/s en juin 2009). Les concentrations en Ag_D et en Ag_P dans le gradient de salinité ont été comparées à la mobilité de Ag_P lors d'une attaque HCl 1 M de particules estuariennes.

5.2. Article #3 :

Silver behaviour along the salinity gradient of the Gironde Estuary

Laurent Lanceleur, Jörg Schäfer*, Gérard Blanc, Alexandra Coynel, Cécile Bossy, Magalie Baudrimont, Corine Glé, Aurélie Larrose, Sophie Renault, Emilie Strady

Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Av. des Facultés, 33405 Talence Cedex, France.

*Corresponding author: phone: ++33 540002967; fax: ++33 556880848
j.schaefer@epoc.u-bordeaux1.fr

Abstract

Dissolved and particulate Ag concentrations (Ag_D and Ag_P, respectively) were measured in surface water and suspended particulate matter (SPM) along the salinity gradient of the Gironde Estuary, South West France, during 3 cruises (2008-2009) covering contrasting hydrologic conditions, i.e. two cruises during intermediate and one during high freshwater discharge (~ 740 m^3/s and ~2,300 m^3/s). Silver distribution reflected non-conservative behaviour with 60-70% of Ag_P in freshwater particles being desorbed by chlorocomplexation. The amount of Ag_P desorbed was similar to the so-called reactive, potentially bioavailable Ag_P fraction (60±4 %) extracted from river SPM by HCl 1M. Both, Ag_P (0.22±0.05 mg/kg) and Ag_P/Th_P (0.025 - 0.028) in the residual fraction of fluvial and estuarine SPM were similar to those in SPM from the estuary mouth and in coastal sediments from the shelf off the Gironde Estuary, indicating that chlorocomplexation desorbs the reactive Ag_P. The data show that Ag_P desorption occurs inside the estuary during low and intermediate discharge, whereas expulsion of partly Ag_P-depleted SPM (Ag_P/Th_P ~0.040) during the flood implies ongoing desorption in the coastal ocean, e.g. in the nearby oyster production areas (Marennes-Oleron Bay). The highest Ag_D levels (6-8 ng/L) occurred in the mid-salinity range (15-20) of the Gironde Estuary and were decoupled from freshwater discharge. In the Maximum Turbidity Zone (MTZ) Ag_D were at minimum, showing that high SPM concentrations (i) induce Ag_D

adsorption in estuarine freshwater and (ii) counterbalance Ag_P desorption in the low salinity range (1-3). Accordingly, Ag behaviour in turbid estuaries appears to be controlled by the balance between salinity and SPM levels. The first estimates of daily Ag_D net fluxes for the Gironde Estuary (Boyle's method) showed relatively stable theoretical Ag_D at zero salinity (Ag_D^0 = 25-30 ng/L) for the contrasting hydrologic situations. Accordingly, Ag_D net fluxes were very similar for the situations with intermediate discharge (1.7 kg/d and 1.6 kg/d) and clearly higher during the flood (5.0 kg/d) despite incomplete desorption. Applying Ag_D^0 to the annual freshwater inputs provided an annual net Ag_D flux that was 12-50 times greater than the Ag_D gross flux. This estimate was consistent with net Ag_D flux estimates obtained from gross Ag_P flux considering 60-70% desorption in the estuarine salinity gradient.

1. Introduction

The ionic form of Ag has been shown to be the most toxic Ag species (Eisler, 1996; Wood et al., 1994; Ratte, 1999), its occurrence in salt water is almost null and Ag chlorocomplex is the dominant dissolved Ag (Ag_D) form in salt water (Barriada et al., 2007). However, estuarine bivalves (Abbe and Sanders, 1990; Wang et al., 1996) and crustaceans (Connell et al., 1991; Wang and Fisher, 1998) accumulate Ag principally from water. The biodisponibility of Ag-chloride complex is mainly due to the ability of the neutral $AgCl_{(aq)}$ specie to diffuse passively through cell membrane (Engel et al., 1981; Reinfelder and Chang, 1999). Moreover, even if $AgCl_{(aq)}$ is less toxic than the ionic form Ag^+, Ag is with Hg and Cu within the most toxic metal to invertebrates and algae in marine and estuarine environments (Bryan, 1984), mainly for the early life stages (Bryan and Langston, 1992). Sub lethal effect of Ag on invertebrates like diminishing their reproductive capability has been shown in estuarine salt water (Hornberger et al., 2000) at relatively moderate levels of environmental contamination compared to United States Environmental Protection Agency recommendation values for Ag toxicity (1,920 and 3,200 ng/L in saltwater and freshwater, respectively; U.S. EPA, 2002).
In former times, anthropogenic Ag inputs into in aquatic systems water were mainly due to acid mine drainage and metallurgy (e.g. Jones, 1986; Lanceleur et al., 2011; Tappin et al., 2010). However, since the late 19th century, Ag use has diversified (e.g. photography, electronics; e.g. Squire et al., 2002) and intensified, making Ag a classical tracer of urban wastewater inputs (Rozan and Hunter, 2001; Sañudo-Wilhelmy and Flegal, 1992; Tappin et al., 2010).

Although there is a general lack of data on dissolved Ag concentrations and fluxes in fluvial and estuarine systems at the global scale (Gobeil et al., 2005; Lanceleur et al., 2011; Zhang et al., 2008), Ag behaviour and fate have been thoroughly studied in few heavily polluted systems, such as the San Francisco Bay, named the "Silver Estuary" (e.g. Flegal et al., 2005, 2007; Hornberger et al., 1999; Squire et al., 2002). This long-term case study has shown that the closure of a large photograph processing plant, growing Ag recycling and rehabilitation of the sewage treatment plant has decreased Ag levels in biota, sediment and water of the bay (e.g. Hornberger et al., 2000; Flegal et al., 2007).

In freshwater systems, dissolved Ag (Ag_D) inputs are efficiently and rapidly (within some minutes) adsorbed onto suspended particles (Davis, 1977; Smith and Flegal, 1993), i.e. Ag transport and distribution closely depend on particle mobility. Consequently, sediments may stock Ag, record former pollution and act as both sinks and secondary sources in case of remobilization due to natural (floods, diagenetic recycling) or anthropogenic (dredging, dam management) processes (Audry et al., 2004a; Coynel et al., 2007; Lanceleur et al., submitted). In the Gironde watershed, 96 % of the fluvial Ag transport occurs in the particulate phase (Lanceleur et al., 2011). However, exposition of Ag-containing particles to salt water (e.g. in estuaries) induces desorption of particulate Ag (Ag_P) by chlorocomplexation (Luoma et al., 1995), enhancing Ag bioavailability (mainly $AgCl_{aq}$; e.g. Engel et al., 1981; Reinfelder and Chang, 1999), i.e. exposure and *in fine* vulnerability of estuarine and coastal organisms. The potentially bioavailable Ag_P (estimated as the HCl-extractable fraction) in estuarine sediment of the San Francisco Bay, was correlated with Ag concentrations in clams (*Scrobicularia Plana*; Luoma et al., 1995). Furthermore, as chloride nearly totally prevents Ag_D from adsorption onto iron oxides (Davis, 1977), direct Ag_D inputs into saline estuarine waters probably remain in the dissolved phase. Data on Ag levels and partitioning in estuarine salinity gradients exists for a few estuaries at the global scale (e.g. Flegal et al., 2007; Tappin et al., 2010) but not for turbid estuaries.

The Gironde Estuary (Fig. 1) is a highly turbid estuary affected by historical metallic pollution (Cd, Pb, Zn, Cu, Hg, As) mainly due to geology, former mining and ore treatment (Audry et al., 2004a, Castelle et al., 2007; Schäfer et al., 2006) and agricultural activities (Masson et al., 2006). In 2004-2005, the French Mussel Watch Programme (RNO) revealed anomalously high Ag concentrations in oysters (*Crassostrea gigas*) from the estuary mouth (Chiffoleau et al., 2005). Historical records of Ag levels in reservoir sediments and in oysters from the estuary mouth suggested that (i) the former ore treatment in the watershed was a major Ag source to the Gironde Estuary for at least 50 years and (ii) increasing Ag levels in

oysters since the 1990s are due to more contemporary sources, likely urban wastewater (e.g. from the Bordeaux agglomeration; Fig. 1; Lanceleur et al., submitted).

The aim of the present work is to study dissolved and particulate Ag levels and partitioning in the salinity and turbidity gradient of the Gironde Estuary under contrasting hydrological situations, providing first information on Ag behaviour in turbid estuaries. Furthermore, we estimate daily Ag_D net fluxes exported to the Atlantic coastal waters and discuss the potential transfer of dissolved and particulate Ag to the near oyster production zone in the Marennes-Oléron Bay.

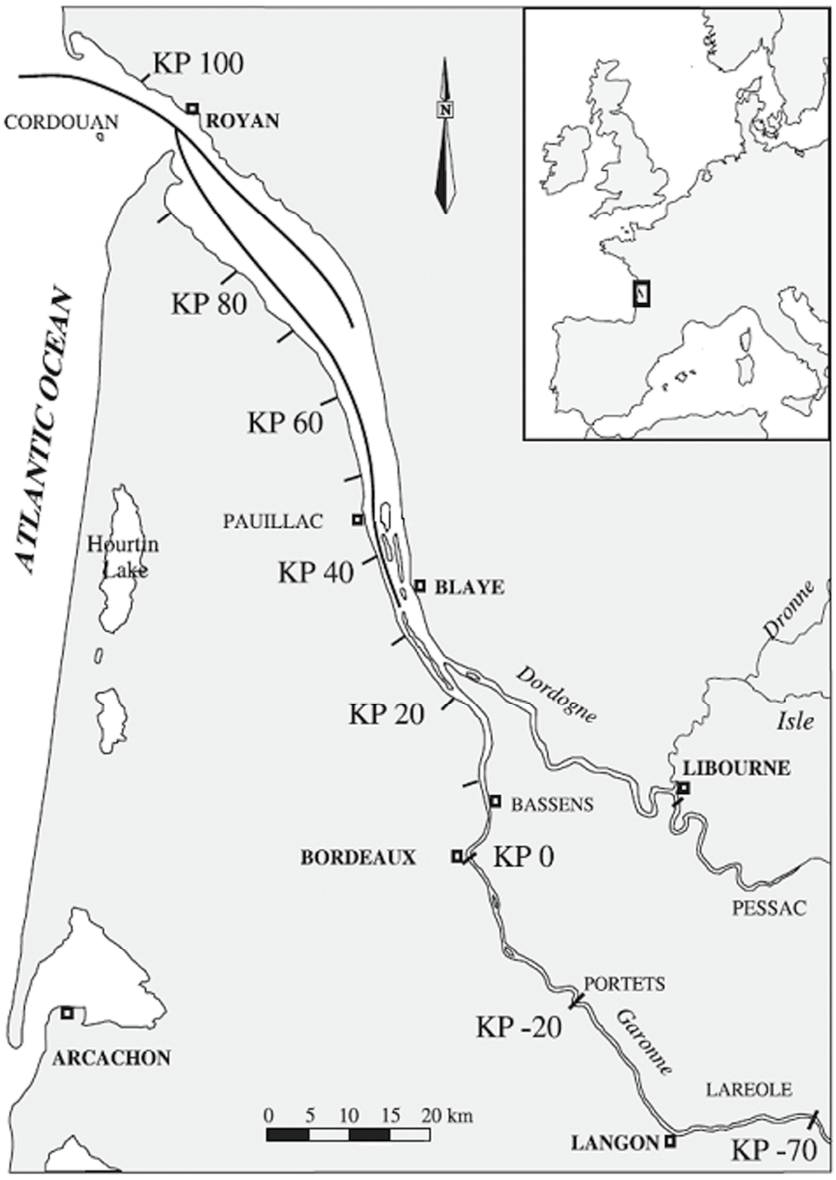

Figure 1. Map of the Gironde Estuary, South West France. Kilometric Point (KP): distance (km) from Bordeaux. Black lines correspond to navigation channels.

2. Materials and Methods

2.1. Study area

The Gironde Estuary (~170 km length; Fig. 1), is the largest estuary of the European Atlantic Coast draining a watershed (80,000 km²) with only to big urban agglomerations (Bordeaux and Toulouse; 2.7 million inhabitants).

Systematic research on its physical, geochemical and hydrological characteristics over several decades has made the Gironde Estuary a model system for the understanding of meso- to macrotidal, turbid estuaries (e.g. Allen et al., 1977; Schäfer et al., 2002; Sottolichio and Castaing, 1999). Its mean annual freshwater discharge varies between 800 and 1,000 m^3/s. Ocean water fluxes at the estuary mouth are 30–40 times higher than fluvial inputs and the asymmetrical progression of the tidal wave toward the upstream estuary induces a pronounced Maximum Turbidity Zone (MTZ), where concentrations of suspended particulate matter (SPM) exceed 1 g/L in surface water and several hundreds of g/L in bottomwater (Allen et al., 1977; Sottolichio and Castaing, 1999; Robert et al., 2004). The MTZ is typically located in the low salinity (S) region, and migrates up and down estuary as a function of both tidal currents and seasonal river flow variations (Sottolichio and Castaing, 1999). Typical water and particles residence times were estimated at ~20–90 days and ~1–2 years, respectively (Jouanneau and Latouche, 1981).

2.2. Sampling

Particle and water samples were collected during three cruises along longitudinal profiles covering the salinity and turbidity gradients in surface water (~1 m depth) of the Gironde Estuary covering contrasting hydrological situations (see below). All the labware in contact with the samples were acid-clean (72 h in 10 % v/v HNO_3, 14 M, J.T. Baker) and thoroughly rinsed with double deionized water (Milli-Q, Millipore). Sampling of surface waters (1 m depth) in the estuarine salinity gradient was performed with an acid-cleaned Niskin bottle, thoroughly rinsed with estuarine water from the site. Collected waters were immediately filtered through cellulose acetate syringe filters (0.2 µm, Sartorius) and transferred into two 60 mL acid-cleaned polypropylene (PP) bottles. One of the replicates was immediately UV-irradiated by passing through a quartz coil (5 m long; internal diameter: 2 mm) around a UV lamp (254 nm, 40 W) at 0.5 mL /min speed (i.e. 30 min irradiation time) in order to break down dissolved/colloidal Ag metal-organic complexes. After acidification (ultrapure HCl;

0.5 % v/v, J.T. Baker, INSTRA analysed), the samples were double-bagged and sealed in polyethylene bags, then stored in the dark at 4°C awaiting analysis.

Suspended particles were collected by pumping 40-200 L of water (depending on the turbidity) through polyethylene tubing with a peristaltic pump (50 L/min), collected in a container previously rinsed with water from the site and immediately centrifuged (Westfalia Separator; 12,000 g; 60 L/h) as described elsewhere (e.g. Masson et al., 2006; Schäfer and Blanc, 2002). Particle samples were stored in the dark at -20°C in re-sealable plastic bags (x2) awaiting arrival in the laboratory, then centrifuged at 4-6°C to remove remaining salt water (Jouan CR4.12; 4,000 g).

Fifteen additional SPM samples were collected twice monthly at Bordeaux (KP0, Fig. 1) between March and October 2008. Finally, we selected three samples representing the 1926-1940 period (28-32.5 cm depth), i.e. before the increase of metalworking industry in the Lot basin (Sivry et al., 2008), of a dated core from the West Gironde Mud Patch (45°42.04 N 1°42.28 W; Schmidt et al., 2005). The SPM samples were dried at 50°C, then powdered and homogenized with an agate mortar and stored in sealed double PE-bags in the dark.

2.3. Suspended Particulate Matter, Particulate and Dissolved Organic Carbon and chlorophyll a measurements

Suspended Particulate Matter (SPM) concentrations in surface water were determined by filtration of precise water volumes through dry, pre-weighed filters (Whatman GF/F, 0.7 μm). The filters were then dried to constant weight at 45°C and re-weighed.

Particulate organic carbon (POC) was measured directly from the dry, powdered and homogenized estuarine material using a carbon/sulphur analyzer (LECO, CS–125) according to Cauwet et al. (1990). Quality was checked by measuring certified reference materials (e.g. LECO 501–503). Accuracy was within 5 % of the certified values and the analytical error (RSD) generally better than 5 %. The analysis of dissolved organic carbon (DOC) in samples of filtered estuarine water was performed by the high temperature catalytic oxidation method (HTCO) using a total organic carbon (TOC) analyser (Shimadzu, TOC 5000) as described elsewhere (Lemaire et al., 2006). Detection limits (3 sigma of the blank values) varied from 0.3 to 0.4 mg/L and reproducibility was generally better than 5 % (r.s.d.). Calibration was done by dilution of a potassium phthalate solution. Details on the applied method and its analytical quality evaluated in an intercalibration between four European laboratories are given elsewhere (Abril et al., 2002).

Chlorophyll a (Chl-a) was measured by fluorometry (Trilogy, Turner) on 2009 samples (Holm-Hansen et al., 1965; Strickland and Parsons, 1972; Yentsh and Menzel, 1963). Dilutions of a solution of Chl-a (*Anacystis nidulans*, 1 mg/L; C-6144; Sigma-Aldrich) was used to calibrate the fluorometer.

2.4. Particulate silver (Ag_P) analyses

For total Ag_P concentration analyses, representative sub-samples of 30 mg were digested in acid-cleaned polypropylene (PP) tubes (DigiTUBEs®, SCP SCIENCE) using 1.5 mL HCl (12 M, Plasmapur, SCP Science), 0.5 mL HNO_3 (14 M, Plasmapur, SCP Science) and 2 mL HF (26 M, Plasmapur, SCP Science). The reactors were then heated at 110°C for 2 h in a heating block (DigiPREP MS®, SCP SCIENCE). After complete cooling, the digestates were evaporated to dryness. Each sample was brought to 10 mL using 150 µL HNO_3 (14 M, Plasmapur) and Milli-Q water (adapted from Audry et al., 2004b and Schäfer and Blanc, 2002).

The so-called reactive (i.e. 1 M HCl extractible; e.g. Morse and Luther, 1999) Ag_{HCl} fraction was extracted from estuarine SPM by mixing sub-samples (200 mg) with 12.5 mL of 1 M HCl (Plasmapur, SCP Science) during 24 h with end-over-end tumbling at 12 rpm. After centrifugation (3000 rpm; 20 min) the supernatant was retrieved, evaporated to dryness and the residues were brought to 10 mL as described for the tri-acid digestion procedure (see above). Single extractions by HCl (1 M) were designed to extract trace metals bound to the reactive phases (e.g. Morse and Luther, 1999) and is expected to extract the potentially bioavailable metal fractions, i.e. the fractions which may represent a threat to aquatic biota (Bryan and Langston, 1992; Langston et al., 1999).

Both the solutions containing the total (Ag_P) and the HCl-extracted Ag_{HCl} fractions were analysed by quadrupole ICP-MS (X2, Thermo-Fischer). The analytical results were quality checked by parallel analyses of the international certified reference sediment NCS-DC-70317 (n = 6). Accuracy was evaluated at 112 ± 5 % and precision (RSD) was better than 4 % at the 0.32 mg/kg level. Detection limits for total Ag_P estimated as three times the standard deviation of method blanks obtained for the total digestion procedure was 0.001 mg/kg (n = 6).

2.5. Dissolved silver (Ag_D) analyses

Dissolved Ag concentrations (Ag_D and UV-Ag_D) were measured by ICP-MS after on-line solid-liquid ion exchange (preconcentration and matrix separation) using isotope dilution

adapted from (Barriada et al., 2003; Ngung'u et al., 2006; Yang and Sturgeon, 2002). Briefly, we added precise amounts (20 to 100 µL) of a ^{107}Ag-enriched solution (0,282 pg/µL; isotopic purity; Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, USA) to 12 mL sample aliquots 24 h before analysis. After this equilibration time the 12 mL samples passed through a minicolumn (85 µL internal volume; Global FIA, USA) filled with a strong anion-exchange resin (Dowex 1-X8, 200–400 mesh, Supelco) to retain the Ag_D species (negatively charged Ag chlorocomplexes represent 85 % of Ag_D species present at only 50 mM chloride concentration; Barriada et al., 2007). The saline matrix was rinsed off with Milli-Q water, followed by on-line elution (HNO_3, 2 M, Plasmapur, SCP Science) transporting the preconcentrated Ag_D species towards the ICP-MS (X7, Thermo Scientific). The peak areas of the transient signals recorded were integrated with PlasmaLab software (Thermo Scientific). From the resulting modified isotope ratios, we calculated Ag_D concentrations using the following equation (Rodriguez-Martin Doimeadios et al., 2003):

$$Cx = C_y \times \frac{m_y}{m_x} \times \frac{A_y - B_y \times R_n}{B_x \times R_n - A_x} \times \frac{AW_x}{AW_y}$$

where C_x is the analyte concentration (ng/mL); C_y is the concentration of spike (ng/mL); m_y is the volume of spike used to prepare the blend solution of sample and spike (mL); m_x is the volume of sample used (mL); A_y is the abundance of the reference isotope in the spike; B_y is the abundance of the spike isotope in the spike; A_x is the abundance of the reference isotope in the sample; B_x is the abundance of the spike isotope in the sample; R_n is the measured reference/spike isotope ratio (mass bias corrected; Monperrus et al., 2004) in the spiked sample; AW_x is the atomic weight of analyte in the sample and AW_y is the atomic weight of the spike.

Accuracy and precision were evaluated from parallel analyses of international certified reference freshwater (NIST-1640), estuarine water (SLEW-3) and nearshore seawater (CASS-4) (Tab. 1). Only NIST-1640 is certified for Ag and SLEW-3 has an informational value of 3 ng/L. However, values obtained for SLEW-3 and CASS-4 (with or without UV-treatment) were comparable to Ag concentrations reported by Morford et al. (2008), Ndung'u et al. (2001), Ndung'u et al. (2006) and Yang and Sturgeon (2002). Interestingly, dissolved Ag levels obtained for CASS-4 tended to be higher after UV treatment (Table 1), which is supported by the data from Ndung'u et al. (2006). Accuracy obtained for the analyses of NIST-1640 diluted 1000-fold (n = 3) was 96 ± 5 % and precision (RSD) was better than 2 % at the 0.8 ng/L level. The detection limit (3 SD of 12 mL sample blanks) was 0.17 ng/L without UV-treatment (n = 4) and 0.28 ng/L with UV-treatment (n = 4). Comparison of data

was done using the Spearman Rank Correlation Coefficient (R), a non parametric method, considered significant when the p value is inferior to 5 %.

Table 1. Mean ± standard deviation of dissolved Ag (Ag_D) concentrations in estuarine and nearshore seawater Certified Reference Material (SLEW-3, CASS-4, CASS-5) and freshwater Standard Reference Material (NIST-1640). n: number of individual analyses.

Certified Reference Waters	Salinity	Certified Ag_D ng/L	Measured Ag_D ng/L	n	Reference
Without UV-Treatment					
NIST-1640 (diluted 1000-fold)	0	7.62	7.49 ± 0.10	3	This study
CASS-4	30.7	nd	6.53 ± 0.45	3	This study
			5.72 ± 0.32	5	Morford et al. 2008
			6.36 ± 1.08	2	Morford et al. 2008
			5.72 ± 0.32	15	Morford et al. 2008
			5.42 ± 0.08	3	Yang and Sturgeon 2002
			6.11 ± 0.90	7	Ndung'u et al. 2001
CASS-5	33.5	nd	1.74 ± 0.04	5	This study
With UV-Treatment					
NIST-1640 (diluted 1000-fold)	0	7.62	7.21 ± 0.54	3	This study
SLEW-3	15	~3	2.64 ± 0.39	3	This study
			2.97 ± 0.77	33	Ndung'u et al. 2006
CASS-4	30.7	nd	10.19 ± 0.86	3	This study
			8.48 ± 1.96	21	Ndung'u et al. 2006

2.6. Daily Ag_D net flux estimation

The commonly applied method for estimating dissolved metal net fluxes from estuaries to the coastal ocean (Boyle et al., 1974) is based on the dissolved element distribution along the salinity gradient in the seaward end. According to Boyle et al. (1974, 1982), the instant net fluxes (F_t) of a dissolved element X across an isohaline S at time t is:

$$F_t = Q_t\left([X]-[S]\frac{d[X]}{d[S]}\right)$$

where Qt is the freshwater discharge at time t, $[X]$ is the concentration of the element of interest and $[S]$ is salinity. If the relation between the dissolved element concentration and the salinity is linear (conservative behaviour), $d[X]/d[S]$ is constant and equal to the slope of the segment representing this relation in the concentration-salinity diagram. In this case, for any salinity $[S]$ belonging to the linearity range, $[X]_S - [S] * (d[X]_S / d[S])$ is constant and equal to the intercept $[X]_0$ of the straight line extrapolated from this segment. Accordingly, the net instantaneous flux of the element through any isohaline in the linearity range is:

$F_t = Q_t [X]_0$

Using the average daily freshwater discharge Q_{fw} provides an estimate of the daily net flux (F_{NET}) as follows:

$F_{NET} = Q_{fw} [X]_0$

The Port Autonome de Bordeaux and the DIREN provided freshwater discharge data for the Garonne and the Dordogne Rivers, the two main tributaries of the Gironde Estuary. Discharge data for the Gironde Estuary were estimated from the sum of the Garonne and the Dordogne River discharges added 15 % to consider the commonly neglected contributions of minor tributaries such as the Isle River and several small tributaries to the Gironde Estuary downstream of the discharge measurement stations (Schäfer et al. 2002).

3. Results

3.1. Hydrological conditions

The first cruise in April 2008 covered a flood event (freshwater discharge 2,320 m^3/s), causing a strong salinity front at the seaward end of the estuary with a 1-30 salinity gradient between KP60 and KP130. The MTZ occurred in the 2-7 salinity range (between KP70 and KP80) with SPM concentrations up to 2.7 g/L (Tab. 2).

The March and June 2009 cruises took place in intermediate discharge conditions with freshwater discharges of 747 m^3/s and 729 m^3/s, respectively. Both cruises focussed on Ag behaviour in the seaward end of the estuarine salinity gradient (S > 25), where SPM concentrations were generally low (Tab. 2).

The two contrasting hydrological situations sampled are part of two hydrologically average years with annual freshwater fluxes into the Gironde Estuary (30.5 km^3 in 2008, 26.7 km^3 in 2009), typical of the 1990-2007 period (27 ± 7 km^3; Dabrin, 2009).

3.2. SPM, DOC, POC and Chl-a along the estuarine salinity gradient

The SPM concentrations in surface water during the flood situation (April 2008) ranged from 10 to 2,660 mg/L, i.e. showed values commonly observed in this turbid estuary (Dabrin et al., 2009), with a well-developed MTZ in the low salinity range. In contrast, during the moderate discharge situation in (March 2009), SPM concentrations were relatively low (< 300 mg/L), especially in the low salinity range. SPM concentrations of punctual sampling at Bordeaux

Table 2. Sampling station locations and data for Salinity (Sal.), Suspended Particulate Matter (SPM), Oxygen (O_2), pH, Temperature (Temp.), Dissolved and Particulate Organic Matter (DOM and POM), Chlorophyll a (Chl-a), Particulate Ag (Ag_P), Particulate Th (Th_P), Ag_P/Th_P, Dissolved Ag (Ag_D) and dissolved Ag after photo-oxidation (UV-Ag_D).

Station	Latitude	Longitude	Sal.	SPM	O_2		pH	Temp.	DOC	POC	Chl-a	Ag_P	Ag_P/ThP_P	Ag_D	UV-Ag_D
				mg/L	%	mg/L		°C	mg/L	%	µg/L	mg/kg		ng/L	ng/L
GIMERCAD 6 (April 2008; Discharge = 2,320 m^3/s)															
GMC 601	45°50.456	00°33.095	0	41	116	12.8	8.2	11.0	2.3			0.60	0.049	2.4	3.0
GMC 602	45°18.634	00°46.455	1.1	550	103	12.0	9.0	10.9	1.5	1.8		0.56	0.060	1.3	2.5
GMC 603	45°24.122	00°50.681	2.5	2660	110	11.9	9.0	11.2	3.1	1.4		0.62	0.048	1.4	1.4
GMC 604	45°26.627	00°53.487	4.0	1040	112	11.9			2.2	1.6		0.61	0.060	2.2	2.3
GMC 605	45°28.492	00°55.969	7.0	668	114	11.9	9.4	11.2	1.4	1.7		0.60	0.053	3.2	3.2
GMC 609	45°28.539	00°55.826	8.5	145	116	12.0		11.2	1.5	1.5		0.54	0.064	4.0	4.2
GMC 608	45°30.627	00°58.330	10.8	166	119	12.0		11.3	1.9	1.4		0.55	0.061	4.8	6.1
GMC 607	45°32.333	01°00.685	13.0	122	108	10.9		11.3	1.4	1.5		0.55	0.050	5.5	6.4
GMC 606	45°33.818	01°03.307	14.7	177	120	12.3	7.5	11.3	1.5	1.5		0.55	0.060	6.5	7.7
GMC 610	45°32.861	01°01.640	16.2	43	121	12.0	8.3	11.3	1.5	1.4		0.49	0.042		
GMC 611	45°34.134	01°02.103	20.2	47	122	11.8	8.4	11.3	1.2	1.5		0.43	0.043	6.3	7.6
GMC 612	45°38.318	01°07.576	22.3	30	123	11.6	8.2	11.2	0.8	1.4		0.32	0.038		
GMC 613	45°39.307	01°10.565	27.1	72	124	11.4	8.0	11.2	1.6	1.4		0.37	0.038	4.4	5.9
GMC 615	45°37.854	01°25.740	29.7	12	124	11.1	8.1	11.6	1.6	1.3		0.21	0.039		
GMC 614	45°39.560	01°12.737	29.8	32	123	11.1	7.8	11.3	1.8	1.2		0.28	0.040		
METOGIR 2 - VOT'TRAM 5 - COUBRE (March 2009; Discharge = 747 m^3/s)															
MTG2 st11	44°51.455	00°33.376	0	41	108	10.9	8.7	14.6				0.48	0.041	1.2	1.3
MTG2 st10	45°01.574	00°53.928	0.1	256	98	10.1	8.0	13.6			0.4	0.34	0.029	0.8	0.9
MTG2 st9	45°01.715	00°41.963	0.7	250	100	10.3	8.0	12.8			0.2	0.32	0.030	0.7	0.7
MTG2 st8	45°10.983	00°43.498	3.4	198	92	10.1	8.0				0.5	0.36	0.040	0.9	1.0
MTG2 st7	45°16.694	00°45.439	6.1	102	100	10.4	8.0	12.3			1.1	0.38	0.031	1.5	1.9
MTG2 st6	45°17.891	00°46.018	8.4	63	100	10.4	8.0	11.9			1.1	0.35	0.032	2.1	2.7
MTG2 st2	45°31.110	00°58.071	11.0	34	94	10.4	8.0	10.8			0.5	0.33	0.027	1.2	2.3
MTG2 st5	45°28.020	00°55.054	11.2	38	107	1.0	8.0	11.3			0.6	0.32	0.030	2.2	2.3
MTG2 st3	45°31.645	00°59.807	13.7	30	99	11.2	7.9	11.3			0.6	0.30	0.024	2.5	2.6
MTG2 st4	45°32.880	01°01.420	15.6	27	100	11.0	7.9	11.3			0.5	0.28	0.028	3.2	3.2
MTG2 st1	45°31.011	00°58.071	17.3	32	99	10.2	7.8	14.0			0.7	0.32	0.029	4.6	4.8
Cbre st10	45°34.259	01°01.545	18.2	71	99	10.1	7.9	15.1		1.4	0.8	0.31	0.027	4.6	5.0
Cbre St9	45°37.708	01°06.337	19.8	52	101	9.9	7.9	15.6		1.5	0.8	0.29	0.023	5.8	6.3
Cbre St8	45°39.130	01°09.471	23.0	45	102	9.9	7.9	15.6		1.6	0.9	0.31	0.024	3.3	5.2
Cbre St7	45°39.750	01°13.023	25.4	31	98	10.4	8.0	14.6		1.5	1.2	0.25	0.021	3.9	4.3
Cbre St6	45°39.403	01°14.547	26.8	40	99	10.4	7.9	14.8		1.6	1.4	0.27	0.022		4.3
Cbre St5	45°38.906	01°15.965	27.7	35	98	10.2	7.9	14.4		1.6	1.4	0.25	0.021		4.5
Cbre St4	45°38.098	01°18.568	29.0	31	101	10.2	7.9	15.0		1.7	1.2	0.23	0.019	4.5	4.5
Cbre St2	45°37.887	01°25.643	29.9	21	101	10.5	7.9	14.1		1.9	0.8	0.24	0.020	4.2	4.3
Cbre St3	45°38.167	01°22.240	30.7	28	102	10.5	7.9	14.0		1.7	1.4	0.22	0.017		3.8
Cbre St1	45°37.833	01°29.205	32.3	12	99	10.3	8.1	13.1		6.3	2.3	0.21	0.025		1.8
VOT'TRAM 6 - COUBRE (June 2009; Discharge = 729 m^3/s)															
Cbre st10	45°34.177	01°01.734	24.6	15	88	7.8	7.8	18.4		2.4	1.7	0.29	0.026	2.9	6.5
Cbre st9	45°37.105	01°06.789	24.8	11	91	8.1	7.9	19.1		3.2	1.9	0.33	0.028	4.0	8.0
Cbre st8	45°39.150	01°09.500	26.7	9	87	8.0	8.0	17.8			2.0	0.29	0.025	2.6	6.5
Cbre st7	45°39.800	01°13.050	27.9	5	88	8.3	8.1	17.6		4.2	0.5	0.27	0.026	2.0	6.0
Cbre st5	45°38.977	01°15.951	28.0	10	92	8.5	8.1	16.6		3.1	1.4	0.30	0.025	3.7	6.1
Cbre st6	45°39.435	01°14.354	29.4	9	88	8.4	8.1	16.6		3.6	1.9	0.23	0.023	2.5	4.3
Cbre st3	45°38.225	01°21.952	29.5	7	89	8.4	7.9	16.4		6.8	1.7	0.23	0.024	2.4	3.4
Cbre st4	45°38.219	01°18.120	30.1	7	83	8.2	8.0	16.2		3.5	2.0	0.18	0.036	2.4	3.3
Cbre st1	45°38.130	01°28.942	31.1	9	98	8.7	8.0	17.4		8.4	1.9	0.20	0.026	2.3	3.0
Cbre st2	45°37.902	01°25.267	31.1	7	91	8.6	7.9	16.6		5.5	1.5	0.23	0.028	2.4	2.7

ranged between 0.03 and 5.23 mg/L. The highest concentrations (> 1 g/L) were reached in low discharge period (August to October) when the mean Gironde discharge was 223 ± 54 m^3/s.

In April 2008, DOC ranged from 0.8 to 3.1 mg/L with the highest value at maximum SPM, i.e. in the low salinity range (Tab. 2). Similarly, POC levels (1.2-1.8 %) also decreased with salinity ($R = -0.73$, $p < 0.05$, $n = 14$) during the April 2008 flood, whereas they increased with salinity in March ($R = 0.93$, $p < 0.05$, $n = 10$) and June 2009 ($R = 0.75$, $p < 0.05$, $n = 9$).

Except one high POC at the seaward end (6.3 %; probably due to marine primary production), POC levels in March 2009 (1.4-1.9%) were clearly lower than in June 2009 (2.4-8.4 %; Tab. 2).

During the low turbidity Spring period (March 2009), Chl-a concentrations ranged from 0.2 to 2.3 µg/L from salinity 0.1 to 32 (Tab. 2) and increased significantly with salinity ($R = 0.60$, $p < 0.05$, $n = 20$). Similar Chl-a values (0.5-2.0 µg/L) occurred in the high salinity range (S = 25-31) in June 2009, but were not related with salinity ($R = 0.10$; Tab. 2). Such relatively low Chl-a levels are typical for this turbid estuary and reflect the very limited light penetration and photochemical processes in the water column (Castelle et al., 2009; Irigoien and Castel, 1997).

3.3. Particulate silver distribution along the salinity gradient

Particulate Ag concentrations decreased progressively as salinity increased (Fig. 3) from 0.5-0.6 mg/kg in Bordeaux freshwaters to ~0.2 mg/kg in coastal seawater (S > 30). A slightly different distribution was observed, when Ag_P concentrations were normalized by total particulate Thorium (Th_P), a highly insoluble element commonly used to correct for possible grain size effect (Larrose et al., 2010; Van Calsteren and Thomas, 2006): In the freshwater zone, Ag_P/Th_P ratios were relatively similar in April 2008 and March 2009 (0.049 and 0.041, respectively) i.e. independent from hydrologic conditions. However, in the marine estuary (S > 25), Ag_P/Th_P was clearly lower (0.025 and 0.028; March and June 2009) during moderate discharge than during the flood (0.040; April 2008; Tab. 2), when Ag_P/Th_P was close to typical freshwater values.

The SPM samples periodically recovered at Bordeaux tended to show two distinct Ag_P levels, depending on SPM concentration. From March to July 2008 (SPM < 1 g/L; n = 10), mean Ag_P concentration was 0.55 ± 0.16 mg/kg ($Ag_P/Th_P = 0.050 \pm 0.018$), of which 60 ± 4 % were extracted by HCl (1 M). Accordingly, the Ag concentration in the residual fraction (Ag_R; not extracted by HCl 1 M) was 0.22 ± 0.05 mg/kg ($Ag_R/Th_P = 0.020 \pm 0.005$). During the

presence of the MTZ at Bordeaux (August to October 2008, SPM > 1 g/L; n = 5) Ag_P was 0.44 ± 0.03 mg/kg (Ag_P/Th_P = 0.033 ± 0.006) with 56 ± 5 % extracted by HCl, corresponding to a Ag_R of 0.19 ± 0.03 mg/kg (Ag_R/Th_P = 0.015 ± 0.003). In the sediments from the West Gironde Mud Patch Ag_P (0.26 ± 0.02 mg/kg) and Ag_R (0.23 ± 0.02 mg/kg) were similar with a common Th_P-normalised value (0.027 ± 0.001), i.e. nearly Ag_P was in the residual fraction.

3.4. Dissolved silver in the salinity and turbidity gradients

The distribution of Ag_D and UV-Ag_D along the salinity gradient followed a bell-shaped curve (Fig. 2), with concentrations from 0.67 to 6.45 ng/L and maximum values located in the 15-25 salinity range. Minimum concentrations occurred either in the low salinity range ($0 \leq S \leq 3$), especially when SPM concentrations were high or in coastal seawater ($S \geq 30$) at the estuary mouth. Freshwater UV-Ag_D in samples from Bordeaux were 1.20 ng/L in March 2009 and 2.42 ng/L in April 2008, whereas the respective UV-Ag_D at the seaward end were 1.76 ng/L and 4.43 ng/L, respectively (i.e. 1.4 and 2 fold greater than freshwater values).

3.5. Effect of UV-treatment

The Ag_D fraction retained by the anionic chelating resin in the matrix separation step without previous UV treatment probably contains the anionic dissolved Ag complexes and 'labile' Ag metal-organic complexes. The UV irradiation prior to ion exchange chromatography aimed at breaking down (as far as possible) dissolved and colloidal (filter passing) Ag metal-organic complexes (Batley and Florence, 1976), which are not retained by the anionic chelating resin without UV treatment. Accordingly, the UV-Ag_D fraction comprises both the Ag_D fraction and 'non-labile' Ag dissolved/colloidal metal-organic complexes, i.e. UV-Ag_D may be considered as approaching the total dissolved Ag concentration. The difference between UV-Ag_D and Ag_D, attributed to 'non-labile' Ag dissolved/colloidal metal-organic complexes, may provide valuable information on operationally defined dissolved Ag speciation (Batley and Florence, 1976)

The results obtained from the three cruises showed that UV-Ag_D may be equal to or up to 3-fold greater than Ag_D, depending on both salinity and SPM concentration (Fig. 2). For example, in April 2008, Ag_D represented 98% of UV-Ag_D in the MTZ (SPM > 600 mg/L; $2 < S < 7$) and 80% upstream from the MTZ (SPM < 50 mg/L; S > 20), i.e. the measured 'non-labile' Ag fraction accounted for 20 % in the upstream estuary. The March and June 2009 data (when available; Figs. 2B and 2C) also suggest that the non-labile fraction was high

(up to 67% of UV-Ag_D) at S > 20 and decreased to values ranged from close to zero to 13% at the more external point (S > 29), relatively independent from SPM concentrations.

4. Discussion

4.1. Particulate Silver behaviour in the estuary

The major part (96 ± 2 %) of Ag provided to the Gironde Estuary by its main tributary, the Garonne River, is associated to the particulate phase (Lanceleur et al., 2011). It is therefore important to understand the fate of Ag_P in the estuarine salinity and turbidity gradients.

The strong decrease in Ag_P along the salinity gradient of the highly turbid Gironde Estuary is consistent with that reported for Japanese rivers flowing into Tokyo Bay (Ag_P decrease from 0.1 to 0.03 mg/kg; Zhang et al., 2008) and was attributed to desorption processes induced by complexation by chlorides (Ciffroy et al., 2003; Davis and Leckie, 1978, Luoma et al., 1995). Comparing Ag_P in SPM from the freshwater and the marine endmembers in April 2008 and March 2009 clearly suggests that 60 to 67 % of Ag_P was desorbed, i.e. added to the dissolved phase along the salinity gradient (Figs. 3A and 3B). This fraction mobilised is equivalent to Ag_{HCl} in SPM from the freshwater estuary (60 ± 4%; Bordeaux, March-July 2009) upstream from the MTZ. Slightly lower Ag_{HCl} fractions (56 ± 5%; Bordeaux, August-October) occurred in the presence of the MTZ, probably because MTZ particles are a mix of freshwater particles and older SPM from which Ag and other metals (e.g. Cd, Cu) have previously been partly mobilized (Masson et al., 2006, 2009). The Ag_{HCl} fractions in freshwater SPM from the Gironde Estuary are greater than, but consistent with, those of oxidized surface sediment from 17 English estuaries (25-40 %; Luoma and Bryan, 1981).

This may be due to (i) differences in SPM origin/composition and/or (ii) previous partial Ag desorption. The latter hypothesis supported by experimental work showing that 55-85 % of the particle-bound Ag in estuarine sediments previously exposed to a 80 µg/L Ag solution during 14 days was extractable by HCl (0.5 M; Luoma et al., 1995).

We have previously established the grain size corrected geochemical background of Ag in SPM from the Gironde Estuary watershed as $Ag_P/Th_P = 0.026$ (Lanceleur et al., 2011). Similar Ag_P/Th_P values occurred in sediment from the West Gironde Mud Patch ($Ag_P/Th_P = 0.027$) and in SPM from the high salinity range during intermediate freshwater discharge (March and June 2009).

During high discharge (April 2008), the Ag_P/Th_P value (0.040) in SPM from the high salinity range was clearly greater than during intermediate discharge, although Ag_P (0.28 mg/kg)

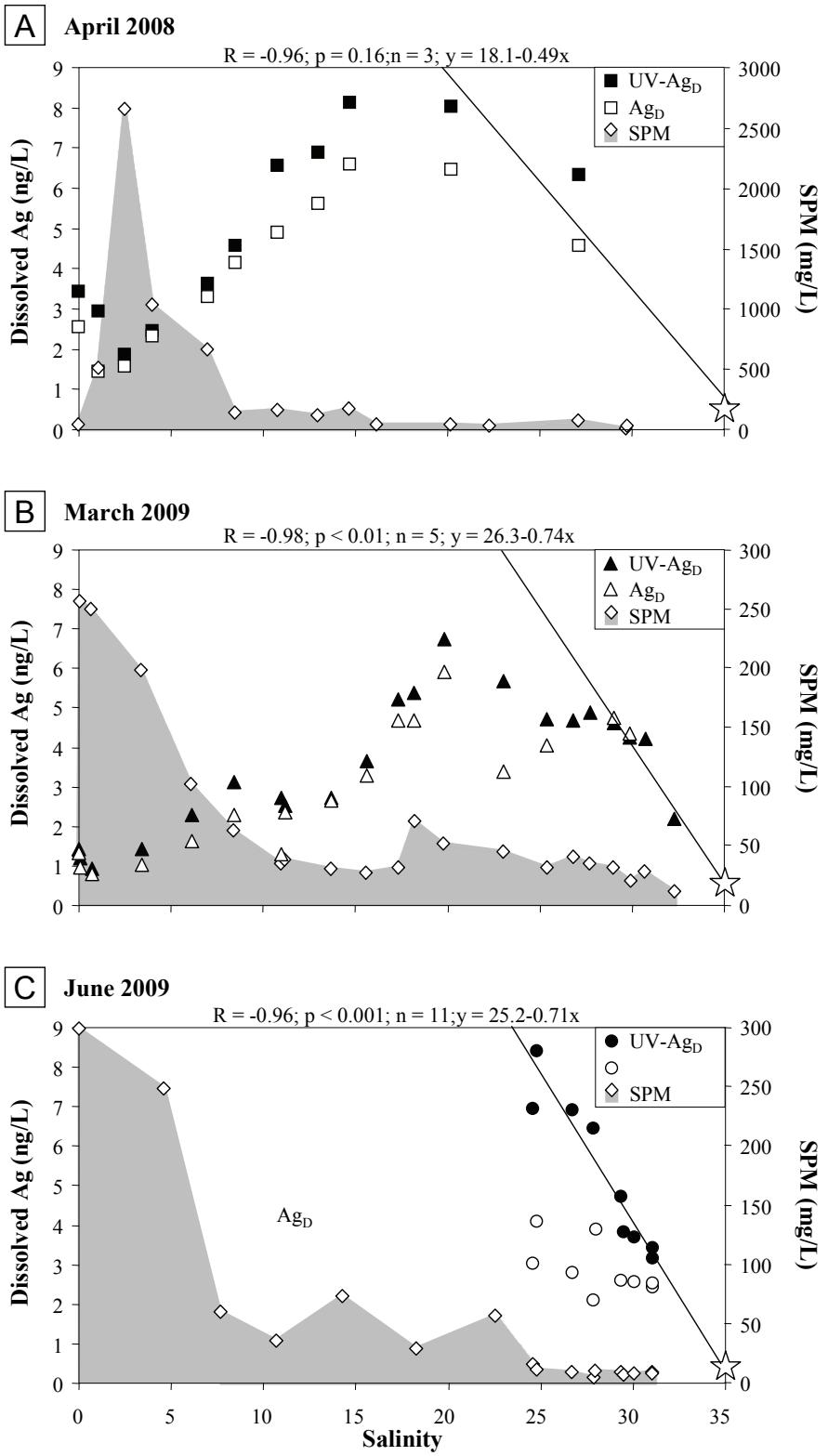

Figure 2. Ag_D, UV-Ag_D and SPM for the April 2008 (A), the March 2009 (A) and the June 2009 (C) cruises along the salinity gradient. Black line: linear regression of used for net UV-Ag_D flux (Boyle et al., 1974, 1982) with correlation coefficient, p-value at the 95% confidence level, number of points used for each regression and equation of the dilution line. The white star represents North Atlantic Ocean Ag_D (data from Rivera-Duarte et al., 1999).

values were similar (Fig. 3). This suggests that during the flood SPM from the estuary mouth (i) had lower Th_P levels than during intermediate discharge, supporting coarser grain sizes and (ii) still contained potentially desorbable Ag_P.These results further suggest that Ag desorption from SPM is efficient during intermediate discharge and results in residual Ag_P/Th_P levels similar to geochemical background. Because Th is highly insoluble in seawater (Van Calsteren and Thomas, 2006), this means that (i) the estuarine salinity mobilises (similar to HCl 1 M) at least the whole anthropogenic component of Ag_P and (ii) this anthropogenic fraction is potentially bioavailable. During the flood, Ag desorption inside the estuary is incomplete, probably due to the relatively short particle residence times, and expulsion of estuarine particles to the coastal ocean is at maximum (Castaing and Allen, 1981). In that condition, Ag release from particles probably occurs in the coastal seawater and may affect the nearby Marennes Oléron Bay, where oyster cultures are exposed to particles derived from the Gironde Estuary (Strady et al., 2011). Assuming that the Ag desorbed in the salinity gradient is bioavailable, particulate Ag transport into the estuary and subsequent desorption is probably the major Ag source accounting for the anomalously high Ag concentrations in estuarine oysters.

4.2. Dissolved Ag distribution

In river water, Ag_D rapidly sorbs onto particles (Davis, 1977; Smith and Flegal, 1993), but this process is reversible, as Ag_P also is rapidly desorbed (e.g. by HCl 0.5M; Luoma et al. 1995). The Ag_D profiles in the Gironde Estuary are typical for metals undergoing chlorocomplexation (e.g. Cd, Dabrin et al., 2009), i.e. they show a mid-salinity maximum in the dissolved phase, reflecting the balance between induced complexation processes and dilution by seawater (e.g. Comans and van Dijk, 1988; Elbaz-Poulichet et al., 1996). Accordingly, the observed increase in Ag_D concentrations with salinity (Fig. 2) was attributed to chloride-induced desorption, which is consistent with results from other estuaries (Luoma et al., 1995; Sañudo-Wilhelmy et al., 1996; Tappin et al., 2010; Wen et al., 1997).

Although very high SPM concentrations (e.g. 2.8 g/L in April 2008) probably imply very high amounts of potentially desorbable Ag in the MTZ, we did not observe addition of Ag_D in the respective salinity range ($0 < S < 3$; Fig. 2). This suggests that in highly turbid low-salinity conditions adsorption prevails over desorption. Again, our results obtained for the Ag partitioning in the Gironde Estuary are in good agreement with previous experiments showing that > 99% of Ag from a 100 mL solution (80 µg/L) was adsorbed by two grams of oxidized estuarine sediment in 24 h at 20% salinity (Luoma et al., 1995).

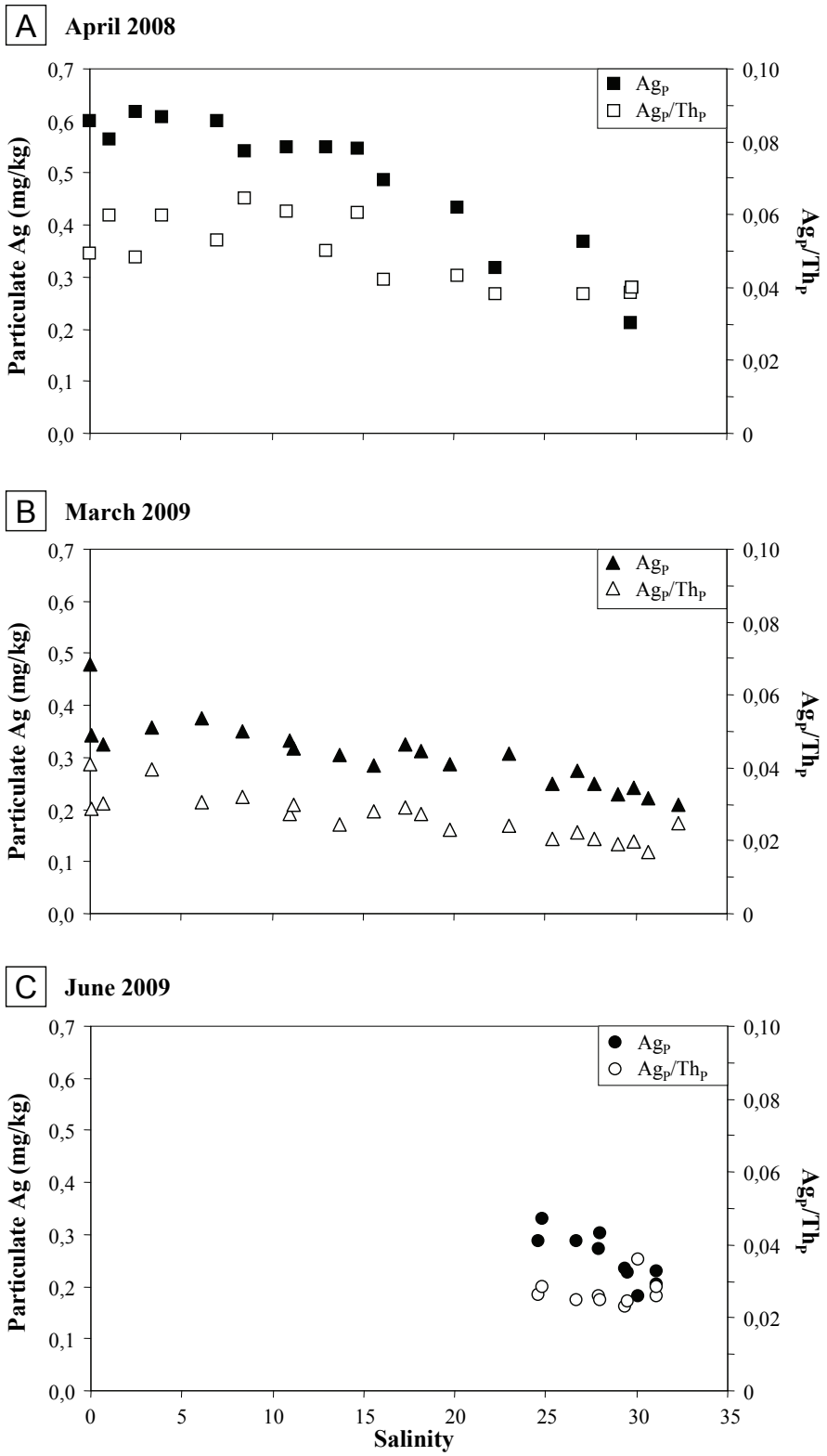

Figure 3. Particulate Ag concentrations (Ag_P) and Ag_P/Th_P for the April 2008 (A), the March 2009 (A) and the June 2009 (C) cruises along the salinity gradient.

The seaward part of the bell-shaped curve (Fig. 2) reflects dilution of Ag-rich estuarine waters by seawater (Ag_D = 0.39 ng/L, Station 4, North Atlantic Ocean; Rivera-Duarte et al., 1999). This seaward-dipping Ag_D gradient parallels the gradient of Ag bioaccumulation in oysters at three stations near the Gironde Estuary mouth (La Fosse, 15 < S < 20) towards the outer station (Bonne Anse, S > 25; Chiffoleau et al., 2005; Lanceleur et al., submitted). The Ag_D values the Gironde Estuary were similar in magnitude to those reported for the Fal Estuary (southwest England; 9.8 ± 6.7 ng/L; Tappin et al., 2010) receiving acid mine drainage from numerous disused mine workings over a protracted period (Langston et al., 2003) and being considered as the most metal-polluted estuary in the UK (Tappin et al., 2010). However, the Ag_D distributions along the salinity gradients were different between the highly turbid Gironde Estuary (5-2,660 mg/L) and the weakly turbid Fal Estuary (2 – 9 mg/L), where Ag_D increased from 3.5 ng/L in freshwater to a maximum of 19.5 ng/L as soon as salinity 6. This suggests that Ag_D levels and distribution in estuarine salinity gradients strongly depend on the balance between desorption and adsorption, i.e. SPM levels and distribution.

Wen et al. (1997) showed that Ag was partially associated with colloidal macromolecular organic matter in the Trinity River estuary (15-70 % of Ag_D species in < 0.45 µm filtered water were superior to 1 kDa, decreasing with increasing salinity). In the Gironde Estuary, maximum DOC levels typically occur in the MTZ (Tab. 2) reflecting (i) accelerated particulate organic matter decomposition due to oxic and anoxic oscillations in the MTZ and (ii) accumulation of DOC in the fluid mud periodically resuspended by tidal currents and/or dredging (Abril et al., 1999). However, despite high DOC levels, Ag_D and UV-Ag_D were similar in nearly all samples from the well-developed MTZ (April 2008; Fig. 2A) for SPM > 200 mg/L, suggesting the absence of non-labile filter-passing colloidal metal-organic Ag complexes in the MTZ. In contrast, at low SPM levels, the non-labile fractions accounted for up to 25 % of Ag_D and were not correlated with DOC (R = -0.24; n = 11) in April 2008. Further speciation investigations combining different cut-offs and separation techniques (e.g. C18 columns; Lemaire et al., 2006) are needed to better understand the behaviour of dissolved/colloidal Ag species in the Gironde Estuary.

4.3. Dissolved silver net fluxes

As water and particles in the Gironde Estuary have very different residence times (respectively 20–90 days and ~1–2 years; Jouanneau and Latouche 1981), there is no simple relation between Ag_D and Ag_P concentrations and fluxes.

However, taking the average Ag_P concentration (0.55 ± 0.16 mg/kg) in SPM from Bordeaux sampled in freshwater and at low turbidity, a potential desorption equal to 60 % of Ag_P and the average SPM gross flux into the estuary during the past decade (1.5 10^6 t/y), we roughly estimated the annual Ag_D net flux at 0.351-0.639 t/y. This estimate is consistent with that obtained from Boyle's method (Boyle et al., 1974, 1982) applied to our dataset. For this, we plotted a marine endmember (Ag_D = 0.39 ng/L; measured at 56 N 25.5 W; Rivera-Duarte et al., 1999) on our Ag_D profiles (Fig. 2) and estimated the theoretic Ag_D concentrations at zero salinity (Ag_D^0) using the UV-Ag_D data.

The Ag_D^0 values obtained for intermediate freshwater discharge conditions were 26 ± 8 ng/L in March 2009 (n = 5; R = -0.98; $p < 0.01$) and 25 ± 4 ng/L in June 2009 (n = 11; r = -0.97; $p < 0.001$), stated at the 95 % confidence level. The dataset obtained for the flood (April 2008) did not allow estimating a confidence interval but the linear decrease in Ag_D in the high salinity range suggested $Ag_D^0$was ~25 ng/L, i.e. similar to the other profiles. This observation is consistent with previous work on Cd net fluxes in the Gironde Estuary, showing that the theoretical dissolved Cadmium concentration at zero salinity (Cd_D^0) was little variable during intermediate and high discharge (Dabrin et al., 2009).

The daily Ag_D net flux was estimated at 5.01 kg/day during the flood (April 2008) and 1.68 ± 0.52 kg/day (March 2009) and 1.57 ± 0.25 kg/day (June 2009) for intermediate freshwater discharges. Applying an Ag_D^0 of 25 ± 4 ng/L (June 2009) to the annual freshwater flux in the Gironde Estuary we estimated annual Ag_D net fluxes at 0.641-0.885 t/y in 2008 and 0.561-0.774 t/y in 2009. These estimates are similar in magnitude to those obtained from average gross fluxes and desorption rates (see above), although they tend to be higher. To improve the estuarine Ag mass balance, we combined the estimated Ag_P gross fluxes during 2006-2008 (to account for the particle residence time in the estuary; 1-2 y), the 2008/2009 Ag_D gross fluxes (water residence time 20-90 days) via the Garonne and Dordogne Rivers (Lanceleur et al., 2011; Garonne River: La Réole site; Dordogne River: 40% and 27% contribution to Ag_D and Ag_P gross fluxes into the Gironde Estuary, respectively) and the Ag_P desorption potential of 60 %. The resulting potential Ag_D net flux of 0.447-0.735 t/y for 2008/2009 was very close to our Ag_D net flux estimates obtained from Boyle's method (see above), i.e. the difference which would be the contribution of intra-estuarine Ag sources appeared small (< 20 %). However, this mass balance does not take into account potential Ag desorption in the coastal ocean from particles expulsed before being depleted in desorbable Ag_P (e.g. during floods), which may partially mask the contribution of intra estuarine Ag sources. In fact, historical records of Ag bioaccumulation in oysters from the estuary mouth

(Lanceleur et al. submitted) clearly suggest a growing influence of Ag from recent sources such as urban wastewater and cloud seeding. Because these potential sources are (at least partly) intra estuarine (e.g. the Bordeaux agglomeration), further work must aim at quantifying their part in the estuarine Ag budget and pollution.

Conclusion

In the salinity gradient of the Gironde Estuary, Ag_P in river borne SPM decreased by 60-67 % due to chloride-induced desorption. This fraction is similar to the potentially bioavailable, reactive fraction as assessed by selective extraction (Ag_{HCl}), suggesting that the average residence time in the estuary (1-2 y) allows complete desorption of the reactive Ag fraction. Silver-depleted SPM from the estuary mouth showed $Ag_P/Th_P = 0.019\text{-}0.028$ during intermediate discharge, which is similar to values in sediment from the West Gironde Mud Patch ($Ag_P/Th_P = 0.027 \pm 0.001$) and the geochemical background of the Gironde watershed ($Ag_P/Th_P = 0.024\text{-}0.028$; Lanceleur et al., 2011). Higher values ($Ag_P/Th_P = 0.040$) during a flood, suggest that exportation of non-depleted particles may result in Ag desorption in the coastal ocean and in the adjacent oyster farming areas in the Marennes-Oléron Bay. The Ag partitioning in the estuary reflects the balance between adsorption and desorption, i.e. by both salinity and SPM concentration, with minimum Ag_D in the MTZ and maximum levels (6-9 times greater than minimum Ag_D) in the mid-salinity range. Filter-passing (< 0.2µm) non-labile metal-organic Ag complexes assessed by solid-liquid extraction with and without previous UV treatment were not detectable in the MTZ and accounted for up to 67 % of total dissolved Ag (UV-Ag_D) in the mid/high salinity range (S = 20-33).

Different approaches provided first estimates of Ag_D net fluxes during the three cruises (flood: 5.01 kg/d; intermediate discharge: 1.68 ± 0.52 kg/d and 1.57 ± 0.25 kg/d) and at the annual time scale (0.641-0.885 t/y in 2008 and 0.561-0.774 t/y in 2009). A first tentative Ag budget for the whole Gironde Estuary clearly showed that further work is necessary to understand the contribution of probable intra-estuarine Ag sources (e.g. Bordeaux urban agglomeration).

Acknowledgements

We thank S. Schmidt and J. Troncinsky for providing dated sediment samples from the West Gironde Mud Patch. We gratefully acknowledge the captains and crews of the RV “Côtes de

la Manche" (INSU) and S. Castelle, A. Dabrin, C. Glé and M. Masson for their help during field work. This work was supported by the ANR « Vulnérabilité, Milieu et Climat » (ANR-07-VULN-003).

References

Abbe, G.R., Sanders, J.G., 1990. Pathways of silver uptake and accumulation by the American oyster (*Crassostrea virginica*) in Chesapeake Bay. Estuar. Coast. Shelf Sci. 31, 113–123.

Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., 1999. Oxic/Anoxic Oscillations and Organic Carbon Mineralization in an Estuarine Maximum Turbidity Zone (The Gironde, France). Limnol. Oceanogr. 44, 1304–1315.

Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabeçadas, G., Lemaire, E, Brogueira, MJ., 2002. Behaviour of organic carbon in nine contrasting European estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci.; 54, 241–262.

Allen, G.P., Sauzay, G., Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1977. Transport and deposition of suspended sediment in the Gironde Estuary, France. In: Wiley, M. (Ed.), Estuary Process. Academic Press, New York, pp. 63–81.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.-M., 2004a. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). Environ. Pollut. 132, 413–26.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004b. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot–Garonne fluvial system (France). Appl. Geochem. 19, 769–86.

Barriada, J.L., Tappin, A.D., Evans, H.E., Achterberg, E.P, 2007. Dissolved silver measurements in seawater. Trends in Anal. Chem. 26, 809–817.

Barriada, J.L., Truscott, J.B., Achterberg, E.P., 2003. Automation of a flow injection system for the determination of dissolved silver at picomolar concentrations in seawater with inductively coupled plasma mass spectrometry. J. Autom. Methods Manag. Chem. 25, 93–100.

Batley, G.E., Florence, T.M., 1976. Determination of the chemical forms of dissolved cadmium, lead and copper in seawater. Mar. Chem. 4, 347–363.

Boyle, E.A., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C., Stallard, R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. Geochim. Cosmochim. Acta 38, 1719–1728.

Boyle, E.A., Huested, S.S., Grant, B., 1982. The chemical mass balance of the Amazon plume-II. Copper, nickel and cadmium. Deep Sea Res. 29, 1355–1364.

Bryan, G.W., 1984. Pollution due to heavy metals and their compounds. Mar. Ecol. 5, 1290–1431.

Bryan, G.W., Langston, W.J., 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. Environ. Pollut. 76, 89–131.

Castaing, P., Allen, G.P., 1981. Mechanisms controlling seaward escape of suspended sediment from the Gironde: A macrotidal estuary in France. Mar. Geol. 40, 101–118.

Castelle, S., Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Etcheber, H., Lissalde, J.-P. 2007. 50-year record and solid state speciation of mercury in natural and contaminated reservoir sediment. Appl. Geochem. 22, 1359–1370.

Castelle, S., Schäfer, J., Blanc, G., Dabrin, A., Lanceleur, L., Masson, M., 2009. Gaseous mercury at the air-water interface of a highly turbid estuary (Gironde Estuary, France). Mar. Chem. 117, 42–51.

Cauwet, G., Gadel, F., de Souza Sierra, M.M., Donard, O., Ewald, M., 1990. Contribution of the Rhône River to organic carbon inputs to the northwestern Mediterranean Sea. Continent. Shelf. Res. 10, 1025–1037.

Chiffoleau, J.-F., Auger, D., Roux, N., Rozuel, E., Santini, A., 2005. Distribution of silver in mussels and oysters along the French coasts: Data from the national monitoring program. Mar. Pollut. Bull. 50, 1719–1723.

Ciffroy, P., Garnier, J.-M., Benyahya, L., 2003. Kinetic partitioning of Co, Mn, Cs, Fe, Ag, Zn and Cd in fresh waters (Loire) mixed with brackish waters (Loire estuary): experimental and modelling approaches. Mar. Pollut. Bull. 46, 626–641.

Comans, R.N.J., van Dijk, C.P.J., 1988. Role of complexation processes in cadmium mobilization during estuarine mixing. Nature 336, 151–154.

Connell, D.B., Sanders, J.G., Riedel, G.F., Abbe, G.R., 1991. Pathways of silver uptake and trophic transfer in estuarine organisms. Environ. Sci. Technol. 25, 921–924.

Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. Appl. Geochem. 22, 821–836.

Dabrin, A., 2009. Mécanisme de transfert des éléments traces métalliques (ETM) et réactivité estuarienne – Cas des systèmes Gironde, Charente, Seudre et Baie de Marennes Oléron. PhD thesis, University of Bordeaux, France, pp. 363.

Dabrin, A., Schäfer, J., Blanc, G., Strady, E., Masson, M., Bossy, C., Castelle, S., Girardot, N., Coynel, A., 2009. Improving estuarine net flux estimates for dissolved cadmium export at the annual timescale: Application to the Gironde Estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 84, 429–439.

Davis, J.A., 1977. Adsorption of Trace Metals and Complexing Ligands at the Oxide/Water Interface. PhD thesis, Stanford University, Stanford, California, pp. 176.

Davis, J.A., Leckie, J.O., 1978. Effect of adsorbed complexing ligands on trace metal uptake by hydrous oxides. Environ. Sci. Technol. 12, 1309–1315.

Eisler, R., 1996. Silver hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Nat. Biol. Ser. Rep. 32, pp. 44.

Elbaz-Poulichet, F., Garnier, J.M., Guan, D.M., Martin, J.M., Thomas, A.J., 1996. The conservative behaviour of trace metals (Cd, Cu, Ni and Pb) and as in the surface plume of stratified estuaries: example of the Rhone River (France). Estuar. Coast. Shelf Sci. 42, 289–310.

Engel, D.W., Sunda, W.G., Fowler, B.A., 1981. Factors affecting trace metal uptake and toxicity to estuarine organisms. I. Environmental parameters. pp 127-144 In F. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurberg and W. B. Vernberg (eds.): Biological Monitoring of Marine Pollutants. New York: Academic Press.

Flegal, A.R., Brown, C.L., Squire, S., Ross, J.R.M., Scelfo, G.M., Hibdon, S., 2007. Spatial and temporal variations in silver contamination and toxicity in San Francisco Bay. Environ. Res. 105, 34–52.

Flegal, A.R., Conaway, C.H., Scelfo, G.M., Hibdon, S.H., Sañudo-Wilhelmy, S.A., 2005. Factors influencing measurements of decadal variations in metal contamination in San Francisco Bay, California. Ecotoxicology 14, 1–16.

Gobeil, C., Rondeau, B., Beaudin, L., 2005. Contribution of municipal effluents to metal fluxes in the St. Lawrence River. Environ. Sci. Technol. 39, 456–464.

Holm-Hansen, O., Lorenzen, C.J., Holmes, R.W., Strickland, J.D.H., 1965. Fluoremetric determination of chlorophyll. J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer. 30, 3–15.

Hornberger, M.I., Luoma, S.N., Cain, D.J., Parchaso, F., Brown, C.L., Bouse, R.M., Wellise, C., Thompson, J.K., 2000. Linkage of bioaccumulation and biological effects to changes in pollutant loads in South San Francisco Bay. Environ. Sci. Technol. 34, 2401–2409.

Hornberger, M.I., Luoma, S.N., van Geen, A., Fuller, C., Anima, R., 1999. Historical trends of metals in the sediments of San Francisco Bay, California. Mar. Chem. 64, 39–55.

Irigoien, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde estuary (SW France). Estuar. Coast. Shelf Sci. 44, 507–517.

Jones, K.C., 1986. The distribution and partitioning of silver and other heavy metals in sediments associated with an acid mine drainage stream. Environ. Pollut. Series B Chemical and Physical 12, 249–263.

Jouanneau, J.M., Latouche, C., 1981. The Gironde Estuary. In: Fürchtbauer, H., Lisitzyn, A.P., Millerman, J.D, Seibold, E. (Eds). Contribution to Sedimentology, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuch-handlung, Stuttgart, pp. 1–115.

Lanceleur, L., Schäfer, J., Bossy, C., Coynel, A., Masson, M., Blanc, G., 2011. Silver fluxes to the Gironde Estuary - Eleven years (1999-2009) of monitoring at the watershed scale. Appl. Geochem. 26, 797-808.

Lanceleur, L., Schäfer, J., Chiffoleau, J.-F., Auger, D., Audry, S., Blanc, G.. Long-term (30 years) records of Cadmium and Silver contamination in oysters and sediment from the Gironde Fluvial-estuarine continuum. Submitted to Chemosphere (March 2011).

Langston, W.J., Burt, G.R., Pope, N.D., 1999. Bioavailability of metals in sediments of the Dogger Bank (central North Sea): a mesocosm study. Estuar. Coast. Shelf Sci. 48, 519–540.

Langston, W.J., Chesman, B.S., Burt, G.R., Hawkins, S.J., Readman, J., Worsfold, P.J., 2003. Characterisation of European Marine Sites. The Fal and Helford, Occasional Publication. Mar. Biolog. Assoc. 8, pp. 160.

Larrose, A., Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Masse, L., Maneux, E., 2010. Assessing the current state of the Gironde Estuary by mapping priority contaminant distribution and risk potential in surface sediment, Appl. Geochem. 25, 1912–1923.

Lemaire, E., Blanc, G., Schäfer, J., Coynel, A., 2006. Dissolved trace metal-organic complexes in the Lot-Garonne River system determined by the C18 Sep-pak system. Aquatic Geochem. 12, 21–38.

Luoma, S.N., Bryan, G.W., 1981. A statistical assessment of the form of trace

metals in oxidized surface sediments employing chemical extractants. Sci. Total Environ. 17, 165–196.

Luoma, S.N., Ho, Y.B., Bryan, G.W., 1995. Fate, bioavailability and toxicity of Ag in estuarine environments. Mar. Pollut. Bull. 31, 44–54.

Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary *via* its major tributaries. Sci. Tot. Environ. 370, 133–146.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Anschutz, P., 2007. Seasonal variations and annual fluxes of arsenic in the Garonne, Dordogne and Isle Rivers, France. Sci. Tot. Environ. 373, 196–207.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Dabrin, A., Castelle, S., Lavaux, G., 2009. Behavior of arsenic and antimony in the surface freshwater reaches of a highly turbid estuary, the Gironde Estuary, France. Appl. Geochem. 24, 1747–1756.

Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., 2004. Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity. Trends. Anal. Chem. 23, 261–272.

Morford, J.L., Kalnejais, L.H., Helman, P., Yen, G., Reinard, M., 2008. Geochemical cycling of silver in marine sediments along an offshore transect. Mar. Chem. 110, 77–88.

Morse, J.W., Luther III, G.W., 1999. Chemical influences on trace metal-sulfide interactions in anoxic sediments. Geochim. Cosmochim. Acta 63, 3373–3378.

Ndung'u, K., Thomas, M.A., Flegal, A.R., 2001. Silver in the western equatorial and South Atlantic Ocean. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 48, 2933–2945.

Ndung'u, K., Ranville, M.A., Franks, R.P., Flegal, A.R., 2006. On-line determination of silver in natural waters by inductively-coupled plasma mass spectrometry: Influence of organic matter. Mar.Chem. 98, 109–120.

Ratte, H.T., 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. Environ. Toxicol. Chem. 18, 89–108.

Reinfelder, J.R., Chang, S.I., 1999. Speciation and microalgal bioavailability of inorganic silver. Environ. Sci. Technol. 33, 1860–1863.

Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., Sañudo-Wilhelmy, S.A., Veron, A.J., 1999. Silver in the far North Atlantic Ocean. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 46, 979–990.

Robert, S., Blanc, G., Schäfer, J., Lavaux, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): the role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. Mar. Chem. 87, 1–13.

Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2003. Using speciated isotope dilution with GC-Inductively coupled plasma MS to determine and unravel the artificial formation of monomethylmercury in certified reference sediments. Anal. Chem. 75, 3202–3211.

Rozan, T.F., Hunter, K.S., 2001. Effects of discharge on silver loading and transport in the Quinnipiac River, Connecticut. Sci. Total Environ. 279, 195–205.

Sañudo-Wilhelmy, S.A., Flegal, A.R., 1992. Anthropogenic silver in the southern California Bight: a new tracer of sewage in coastal waters. Environ. Sci. Technol. 26, 2147–2151.

Sañudo-Wilhelmy, S.A., Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., 1996. Distribution of colloidal trace metals in the San Francisco Bay estuary. Geochim. Cosmochim. Acta 60, 4933–4944.

Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. Sci. Tot. Environ. 298, 103–118.

Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S, Cossa, D, Bossy, C., 2006. Mercury in the Lot-Garonne River system (France): Sources, fluxes and anthropogenic component. Appl. Geochem. 21, 515–527.

Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. Mar. Chem. 79, 229–242.

Schmidt, S., Tronczynski, J., Guiot, N., Lefevre, I., 2005. Dating of sediments in the Biscay bay: Implication for pollution chronology; Radioprotection. 40, 655–660.

Sivry, Y., Riotte, J., Sonke, J.E., Audry, S., Schäfer, J., Viers, J., Blanc, G., Freydier, R., Dupré, B., 2008. Zn isotopes as tracers of anthropogenic pollution from Zn-ore smelters The Riou Mort–Lot River system. Chem. Geol. 255, 295–304.

Smith, G.J., Flegal, A.R., 1993. Silver in San Francisco Bay estuarine waters. Estuaries and Coasts 16, 547–558.

Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highlyconcentrated structures in the Gironde Estuary. Comptes Rendus de l'Academie de Sciences, Sciences de la Terre et des Planetes 329, 795–800.

Squire, S., Selfo, G.M., Revenaugh, J., Flegal, A.R., 2002. Decadal trends of silver and lead contamination in San Francisco Bay surface waters. Environ. Sci. Technol. 36, 2379–2386.

Strady, E., Blanc, G., Baudrimont, M., Schäfer, J., Robert, S., Lafon, V., 2011. Roles of regional hydrodynamic and trophic contamination in cadmium bioaccumulation by pacific oysters in the Marennes-Oléron Bay (France). Chemosphere, in press.

Strickland, J.D., Parsons, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2nd ed.Bull. Fish. Res. Bd. Can., pp. 310.

Tappin, A.D., Barriada, J.L., Braungardt, C.B., Evans, E.H., Patey, M.D., Achterberg, E.P., 2010. Dissolved silver in European estuarine and coastal waters. Water Res. 44, 4204–4216.

U.S. EPA (Environmental Protection Agency), 2002. National Recommended Water Quality Criteria: 2002. EPA 882-R-02-047. Washington, DC: U. S. E.P.A., pp. 33. Available at: Http://www.epa.gov/waterscience/criteria/wqcriteria.html

Van Calsteren, P., Thomas, L., 2006. Uranium-series dating applications in natural environmental science. Earth Sci. Rev. 75, 155–175.

Wang, W.-X., Fisher, N.S., 1998. Accumulation of Trace Elements in a Marine Copepod. Limnol. Oceanogr. 43, 273–283.

Wang, W.-X., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 1996. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 140, 91–113.

Wen, L-S., Santschi, P.H., Gill, G.A., Paternostro, C.L, Lehman, R.D., 1997.

Colloidal and particulate silver in river and estuarine water of Texas. Environ. Sci. Technol. 31, 723–731.

Wood, C.M., Munger, S., Galvez, F., Hogstrand, C., 1994. The physiology of silver toxicity in freshwater fish. Pages 109-114 *in* A. W. Andren, T. W. Bober, J. R. Kramer, A. Sodergren, E. A. Crecelius, S. N. Luoma, J. H. Rodgers, organizers. Transport, fate and effects of silver in the environment. Proceedings of the 2nd international conference. University of Wisconsin Sea Grant Institute, Madison.

Yang, L., Sturgeon, R.E., 2002. On-line determination of silver in sea-water and marine sediment by inductively coupled plasma mass spectrometry. J Anal At Spectrom 17, 88–93.

Yentsch, C.S., Menzel, D.W., 1963. A method for the determination of phytoplancton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep-Sea Res. 10, 221–231.

Zhang, Y., Obata, H., Gamo, T., 2008. Silver in Tokyo Bay estuarine waters and Japanese rivers. J. Oceanogr. 64, 259–265.

5.3. Conclusion

Dans ce chapitre, les objectifs de départ visaient à déterminer :

- ✓ le comportement de Ag en relation avec un gradient de turbidité et de salinité dans l'estuaire salin,
- ✓ les flux sortant de l'estuaire (flux nets) en Ag_D,
- ✓ le rôle de l'estuaire comme source ou comme puits en Ag.

Pour répondre au premier objectif, les trois profils longitudinaux dans l'estuaire de la Gironde réalisés en situations hydrologiques contrastées ont permis **pour la première fois** d'établir que :

- ✓ **en situation de débit moyen, les concentrations en Ag_P des MES ont diminué de 56% (i.e. de ~0,5 à 0,2 mg/kg) depuis le pôle fluvial vers le pôle marin de l'estuaire de la Gironde** et de 59% d'après le rapport Ag_P/Th_P (i.e. affranchi de l'effet granulométrique). Une proportion similaire de Ag_P (60 ± 4%) est mobilisée par une attaque HCl 1 M pour des MES prélevées à Bordeaux tout au long de l'année 2008, permettant **d'estimer ainsi la quantité en Ag_P qui sera potentiellement mobilisé par les processus estuariens**.

- ✓ **en situation de crue**, la diminution des concentrations en Ag_P des MES dans l'estuaire salin est de 65% (i.e. de ~0,6 à 0,2 mg/kg) mais seulement de 22% d'après le rapport Ag_P/Th_P, indiquant que **Ag_P peut être mobilisé en dehors de l'estuaire**.

- ✓ les teneurs en Ag_P des particules prélevées au pôle marin (0,21-0,28 mg/kg) étaient similaires i) à celles enregistrées dans le sédiment de la Grande Vasière ouest girondine (0,27 mg/kg), représentant le stade ultime de la désorption induite par les chlorures, et ii) similaires aux concentrations résiduelles en Ag_P des MES de Bordeaux (0,22 ± 0,05 mg/kg), i.e. après élimination des fractions de Ag_P associé aux minéraux argileux, des carbonates et des oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium par l'attaque HCl 1 M (Huerta-Diaz et Morse, 1990 ; Luoma, 1989 ; Raiswell et al., 1994).

- ✓ **l'addition de Ag à la phase dissoute se traduit par une courbe en cloche des concentrations en Ag_D dans le gradient salin**. Les concentrations maximales en Ag_D de **6-8 ng/l**, indépendantes du débit, sont enregistrées aux salinités 15 à 25 et peuvent expliquer l'ordre systématique des concentrations en Ag dans les huîtres (La Fosse > Pontaillac > Bonne Anse ; Chap. 3 ; Fig. 5.1).

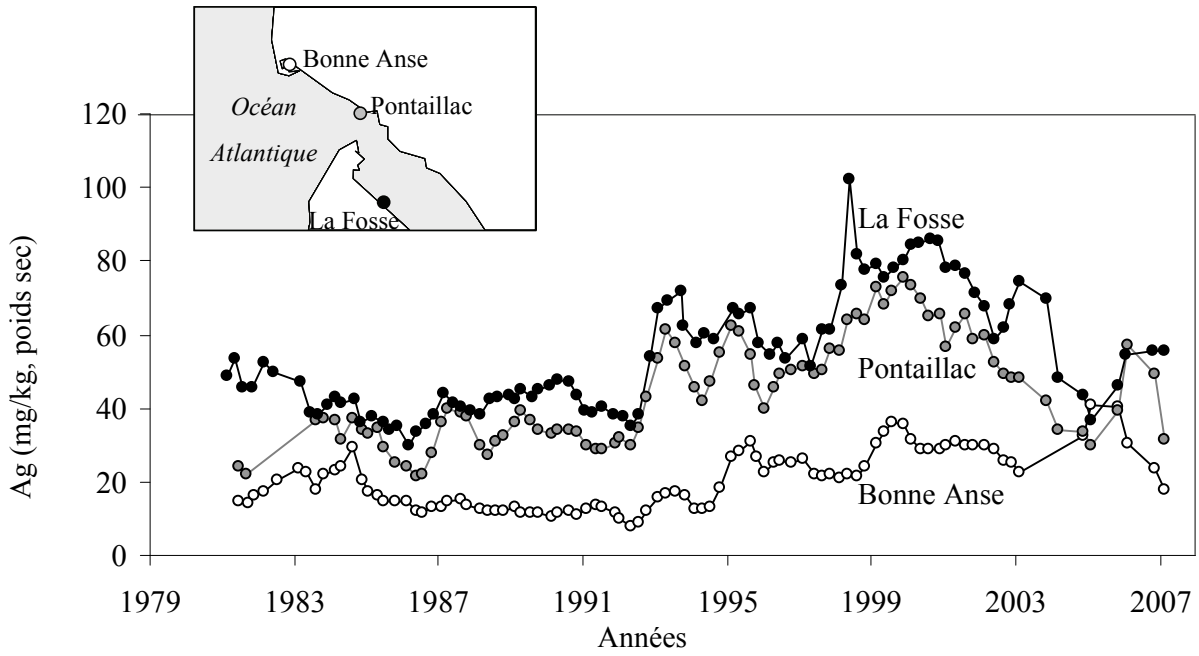

Figure 5.1. *Moyennes mobiles des concentrations en Ag dans les huîtres de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde sur la période 1982-2007.*

Le rapport Ag_P/Th_P (i.e. affranchi de l'effet de la granulométrie) calculé pour les particules du pôle marin prélevées lors d'un fort débit (Avril 2008) était supérieur (0,040) :
- à celui calculé pour des particules en situation de débit moyen (0,019-0,028),
- aux sédiments de la grande vasière (0,025),
- et aux particules de rivières après l'extraction de Ag par HCl 1 M (0,015 ± 0,003).

Par conséquent, l'ensemble de ces résultats indique que :

1. dans l'estuaire de la Gironde, le temps de résidence des particules transportées du continent vers l'océan (1-2 ans ; Jouanneau et Latouche, 1981) est suffisant pour permettre la désorption de la quasi-totalité de Ag_P potentiellement biodisponible,

2. cependant, l'éjection de particules plus « jeunes » en situation de fort débit peut prolonger la désorption de Ag_P en dehors de l'estuaire de la Gironde et dans les écosystèmes adjacents,

3. la fraction de Ag transférée depuis la phase particulaire vers la phase dissoute par l'ensemble des processus estuariens, estimée par le ratio des concentrations en Ag_P des particules du pôle marin sur celles du pôle fluvial, correspond à la fraction réactive de Ag_P extraite des particules fraîches de rivière par une attaque HCl 1 M,

4. la pression d'exposition à Ag subit par les organismes vivants de l'estuaire de la Gironde est maximale dans la zone de salinité 15-25 et est induite par la formation de chlorocomplexes de Ag.

Une originalité de ce travail, outre de présenter **les premiers profils longitudinaux pour Ag_D et Ag_P dans l'estuaire de la Gironde**, est liée à l'une des caractéristiques principales de cet estuaire. En effet, la turbidité importante des eaux de l'estuaire de la Gironde a un effet sur les profils de concentrations en Ag_D qui présentent une concentration minimale dans la zone de turbidité maximale (Fig. 5.2 A), à la différence de ce qui a pu être observé dans d'autres systèmes estuariens comme l'estuaire de Fal au sud ouest de l'Angleterre (Fig. 5.2 B ; Tappin et al., 2010). Ce constat implique que la distribution estuarienne de Ag_D dans un gradient estuarien est fonction de la **salinité et de la de turbidité**.

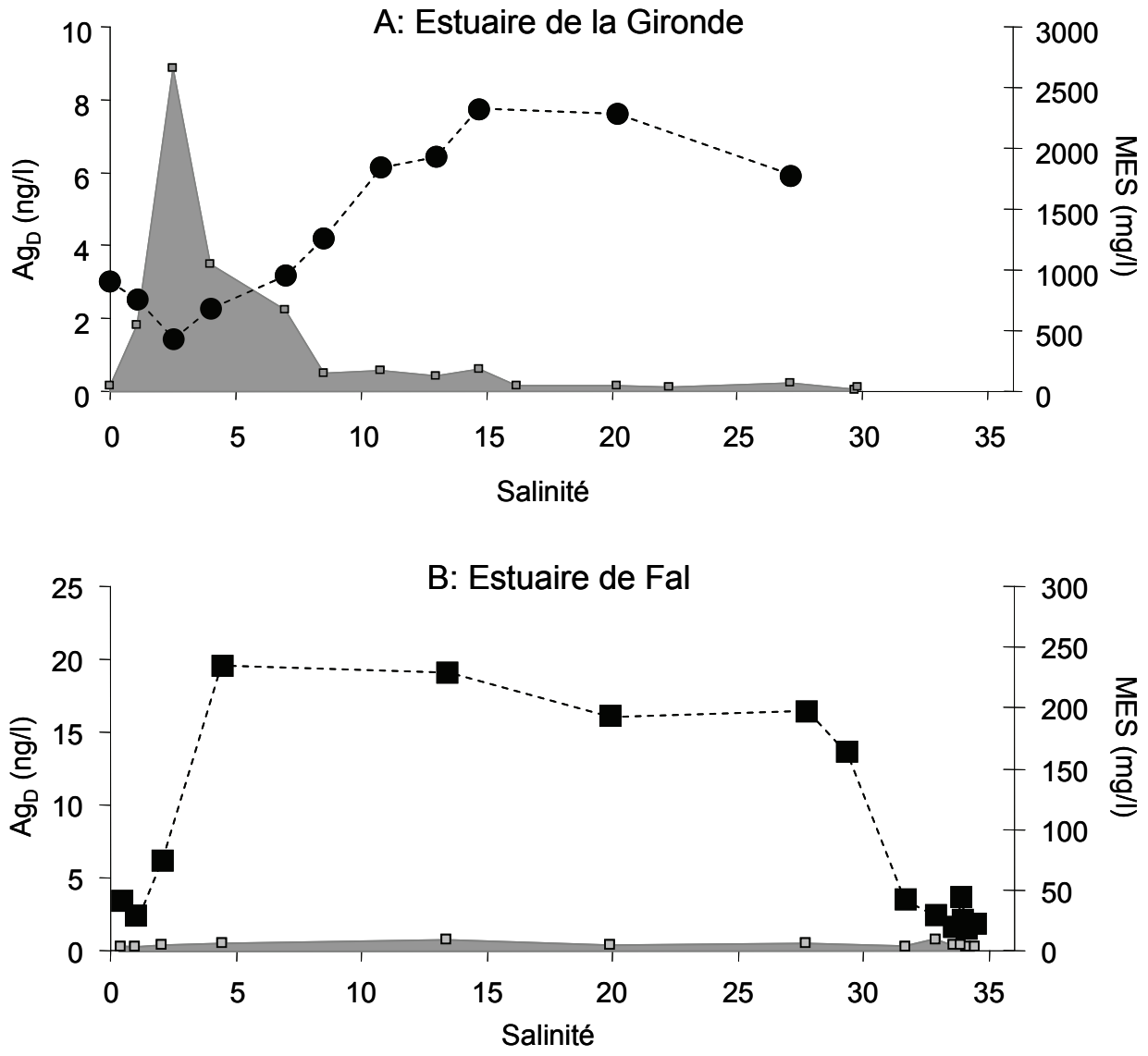

Figure 5.2. *Distribution des concentrations en Ag dissous (Ag_D ; ronds et carrés noirs) et en matières en suspension (MES ; carrés et surfaces gris) dans le gradient de salinité de l'estuaire de l'estuaire de la Gironde en avril 2008 (A) et dans l'estuaire de Fal, sud ouest de l'Angleterre (B ; réalisé d'après Tappin et al., 2010). N.B. Les gammes de variation de Ag_D et des MES sont différentes entre A et B. Le graphique B a été tracé d'après les données numériques publiées par Tappin et al. (2010).*

Le calcul des flux nets réalisé à l'aide de la méthode de Boyle (Boyle et al., 1974, 1982) répond au second objectif de ce chapitre :

- ✓ en situation de crue (avril 2008), le flux net journalier en Ag_D était de 5,0 kg/j alors qu'ils étaient de 1,7 ± 0,5 kg/j et 1,6 ± 0,2 kg/j respectivement en période de débit moyen en mars et juin 2009,

- ✓ la concentration théorique de Ag_D estimée selon la méthode de Boyle à salinité 0 en condition de débit moyen est de 25 ± 4 ng/l,

- ✓ l'extrapolation des flux nets journaliers à l'année, pour laquelle on admet une erreur de ~20-25% (Dabrin et al., 2009), donne des flux nets annuels en Ag_D (i.e. expulsés de l'estuaire de la Gironde) de 0,64 à 0,89 t en 2008 contre 0,56 à 0,77 t en 2009.

Les flux sortants en Ag_D sont 12 à 50 fois supérieurs aux flux entrants dans l'estuaire pour les années correspondantes (cf. Chap. 4). L'export en Ag_D correspond à la somme des flux entrants en Ag_D et à la quantité de Ag_D issue de la désorption de 60% des flux entrant en Ag_P (0,447 à 0,735 t/an sur la période 2006-2008). Le flux net en Ag_P, estimé pour un export annuel de 1,5 Mt/an de particules (Castaing et Jouanneau, 1987) et une concentration en Ag_P de 0,18 à 0,24 mg/kg (valeurs minimale et maximale en Ag_P mesurées pour des salinités supérieures à 30 pour les échantillonnages en condition de débit moyen), est de 0,27 à 0,36 t/an. **Le flux total exporté en Ag est donc compris entre 0,91 à 1,25 t/an en 2008 et de 0,83 à 1,13 t/an en 2009 soit l'équivalent du flux brut en Ag en 2008 et 2009** (d'après une contribution de 17-37% de la Dordogne au flux brut de la Garonne ; Chap. 4) estimé à 0,83 à 0,97 t/an en 2008 et de 1,1 à 1,3 t/an en 2009.
En conséquence, et en réponse au troisième objectif, les marges d'erreur des flux masquent les sources/puits intra-estuarien pour les années 2008 et 2009. Toutefois, **à la différence des flux bruts en Ag représentés à 96% par la phase particulaire, les flux nets en Ag_P, estimés à 0,27 à 0,36 t/an, ne représentent plus que ~30% du flux total exporté en Ag**. **La pression d'exposition des organismes aquatiques à Ag_D devient donc supérieure dans le gradient salin**.

Pour conclure, bien que rapidement piégé sur les particules en eau douce (Davis, 1977 ; Smith et Flegal, 1993), plus de la moitié du flux en Ag_P parvenant dans l'estuaire salin passe en phase dissoute et augmente ainsi la pression d'exposition sur les espèces estuariennes, notamment dans la zone de salinité 15-25 où les concentrations en Ag_D sont maximales. La dilution par les eaux marines diminue l'impact potentiel du panache de la Gironde sur les écosystèmes adjacent à l'estuaire comme la Baie de Marennes Oléron. Cependant, l'expulsion de matière particulaire ayant un rapport Ag_P/Th_P supérieur à 0,025 (sédiments de la Grande Vasière) telle que nous l'avons observé en situation de crue peut être une voie de transport et de contamination par Ag de la zone côtière.

Chapitre 6

Bioaccumulation de Ag chez les anguilles et les crevettes de l'estuaire de la Gironde

6.1. Introduction

Appartenant à la classe des métaux les plus toxiques (e.g. Fisher et al., 1984), les effets de Ag sont principalement néfastes pour la reproduction du zooplancton et des bivalves (e.g. Hook et Fisher, 2001 ; Hornberger et al., 2000) et la capacité d'osmorégulation des poissons (Hogstrand et al., 2003). La toxicité de Ag dépend de la voie d'exposition (directe ou trophique) et de sa spéciation (Hogstrand et al., 2003 ; Reinfelder et Chang, 1999). Pour les organismes aquatiques de haut de chaîne alimentaire, l'exposition à Ag est principalement directe (Connell et al., 1991). Chez les poissons, l'exposition directe à Ag dans sa forme libre Ag^+ provoque l'inhibition de l'enzyme Na^+/K^+ ATPase dans les branchies, empêchant l'adsorption de Na^+ (et de Cl^- pour quelques espèces) dans l'organisme (Grosell et al., 2000 ; Morgan et al., 1997 ; Wood et al., 1996). La perte de Na^+ (et de Cl^-) produit un déséquilibre osmotique entre le plasma et les tissus, entraînant un mouvement d'eau depuis le compartiment extracellulaire vers le compartiment intracellulaire qui peut conduire à un effondrement cardiovasculaire (i.e. collapse des vaisseaux ; Hogstrand et Wood, 1998).

L'ion Ag^+ est considéré comme la forme la plus disponible pour les poissons (Wood et al., 1994) et la plus toxique (e.g. Hogstrand et al., 1996) à un niveau de concentration relativement faible lors d'une exposition à long terme (i.e. pour les truites arc-en-ciel les seuils de toxicité sont : 96 h CL50 : 10,2 µg Ag/l dans 10 µM Cl^- (Grosell et al., 2000) ; 28 jours CL15 : 2 µg/l dans 700 µM Cl^- (Galvez et al., 1998)). Toutefois, une telle quantité de cette forme libre est peu probable dans la plupart des eaux naturelles et notamment en présence de chlore (Barriada et al., 2007). En matrice salée, la formation de complexes Ag-Cl peut protéger certains organismes des perturbations physiologiques induites par Ag^+ (i.e. la truite arc-en-ciel ; Grosell et al., 2000). Cependant, d'autres organismes comme l'anguille européenne sont sensibles à la toxicité de ces chlorocomplexes de Ag (Grosell et al., 2000). L'accumulation de Ag, son excrétion et sa distribution parmi les organes internes des organismes aquatiques sont fonction de sa spéciation (e.g. Hogstrand et al., 2003 ; Hook et Fisher, 2001), or nous avons montré que dans l'estuaire de la Gironde :

- il existe un gradient longitudinal des concentrations en Ag lié à l'addition de Ag depuis la phase particulaire vers la phase dissoute qui est induite par la formation de chlorocomplexes. Ce comportement non conservatif de Ag dans le gradient salin est caractérisé par des concentrations en Ag dissous (Ag_D) maximales dans la zone de salinité 15-25 (cf Chap. 5).

- l'accumulation de Ag dans les huîtres prélevées à l'embouchure reflète le gradient d'exposition à Ag_D (cf Chap. 3 et 5).

Dans le contexte actuel de :

- ✓ la chute drastique des populations d'anguilles européennes, (**diminuées de plus de 90% depuis les années 1970** ; ICES, 2002),
- ✓ **les déformations inexpliquées de l'exosquelette** de plus de 40% des crevettes adultes dans l'estuaire de la Gironde (*Palaemon sp.* ; Béguer et al., 2008),
- ✓ l'exposition historique des organismes aux polluants métalliques dans cet estuaire (e.g. Cd, Hg, Ag, As ; Audry et al., 2004c ; Castelle et al., 2007 ; Lanceleur et al., soumis ; Masson et al., 2007),

il apparaît important de déterminer :

- ✓ les voies d'exposition des anguilles,
- ✓ la répartition interne (organotropisme) de Ag chez les anguilles et les crevettes,
- ✓ **pour la première fois**, les niveaux de contamination en Ag et les facteurs de bioaccumulation des anguilles et des crevettes de l'estuaire de la Gironde.

Pour répondre à ces questions, nous avons :

1. mené une expérimentation de terrain dans différents sites clés de l'estuaire de la Gironde équipés de systèmes de mesure et d'enregistrement en continu à très haute résolution (MAGEST), au cours de laquelle nous avons exposé des anguilles à une contamination directe et à une contamination trophique en contrôlant leur nourriture,
2. échantillonné des anguilles « sauvages » en collaboration avec des professionnels de la pêche,
3. mené une analyse préliminaire des niveaux de concentration des deux espèces de crevettes majoritairement pêchées dans l'estuaire de la Gironde.

6.2. Expérimentation de terrain : exposition d'anguilles *in-situ*

6.2.1. Caractérisation des différents sites clés de l'estuaire de la Gironde et contrôle des concentrations en Ag de la nourriture des anguilles

6.2.1.a. Paramètres physicochimiques aux différents sites d'exposition

La mise en eau des cages contenant les anguilles a eu lieu le 01/09/2008 à Pauillac, le 02/09/2008 à Bordeaux et le 08/09/2008 à Cadaujac, proche de Portets où se situe une station MAGEST (Fig. 2.16). Après trois mois d'exposition, les anguilles ont été récupérées et sacrifiées le 27/11/2008. Durant cette période, un étiage prononcé de fin d'été est marqué par des débits (Q) de la Garonne inférieurs à 100 m^3/s en septembre et inférieurs à 150 m^3/s en octobre (Fig. 6.1). Cette période d'étiage a pris fin dès le début du mois de novembre après deux évènements pluvieux (Q : 1300 m^3/s) lors de la première semaine suivi par des débits relativement constants sur la fin du mois (Q moyen : 500 m^3/s ; Fig. 6.1).

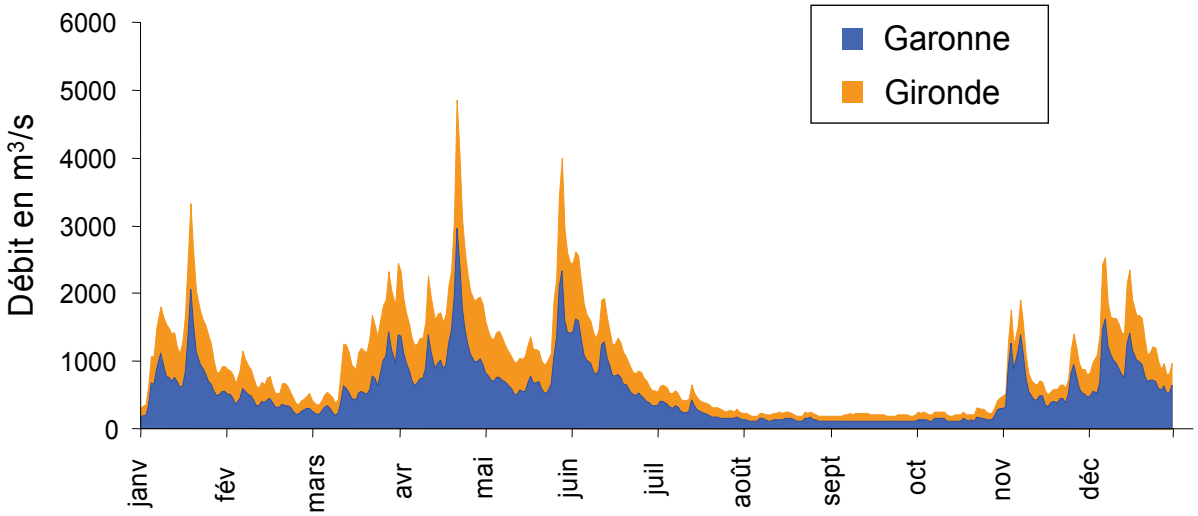

Figure 6.1. *Débit de la Garonne et de la Gironde en 2008 (source : http://www.hydro.eaufrance.fr/). Les débits de la Gironde sont calculés comme la somme des débits de la Garonne et de la Dordogne + 15% afin de tenir compte des affluents situés en aval des stations de jaugeage (Schäfer et al., 2002).*

Les concentrations en MES mesurées lors du suivi bimensuel et mensuel des sites où étaient exposées les anguilles indiquent que le bouchon vaseux était présent dans l'estuaire fluvial en Garonne et en Dordogne lors de cette fin de période d'étiage (Tab. 6.1).

Tableau 6.1. *Concentrations (en g/l) en MES aux différents sites de l'expérimentation de terrain.*

	Libourne	Cadaujac	Bordeaux	Pauillac
28/08/2008	0,146	2,03	1,03	0,439
18/09/2008	2,36	1,36	3,03	0,501
29/09/2008	1,37	1,70	5,23	0,715
16/10/2008	1,59	0,920	4,64	3,19
10/11/2008	0,111	0,176	0,111	1,01
17/12/2008	0,034	0,102	0,279	0,881

Des concentrations en MES importantes, supérieures au g/l, ont été mesurées à chaque site mais dont les maximales ont été mesurées à des dates différentes. En raison de la grande réactivité de ce milieu soumis au balancement des marées, l'échantillonnage bimensuel ou mensuel des stations donne une excellente indication de la présence/absence de la ZTM, mais n'est pas suffisant pour appréhender la variabilité journalière des concentrations en MES. L'enregistrement de la turbidité (en N.T.U.) à très haute fréquence par les stations MAGEST (Fig. 6.2) traduit mieux cette variabilité à l'échelle des marées avec des phases de dépôt lors de l'étiage et de remise en suspension lors des mouvements d'eau.

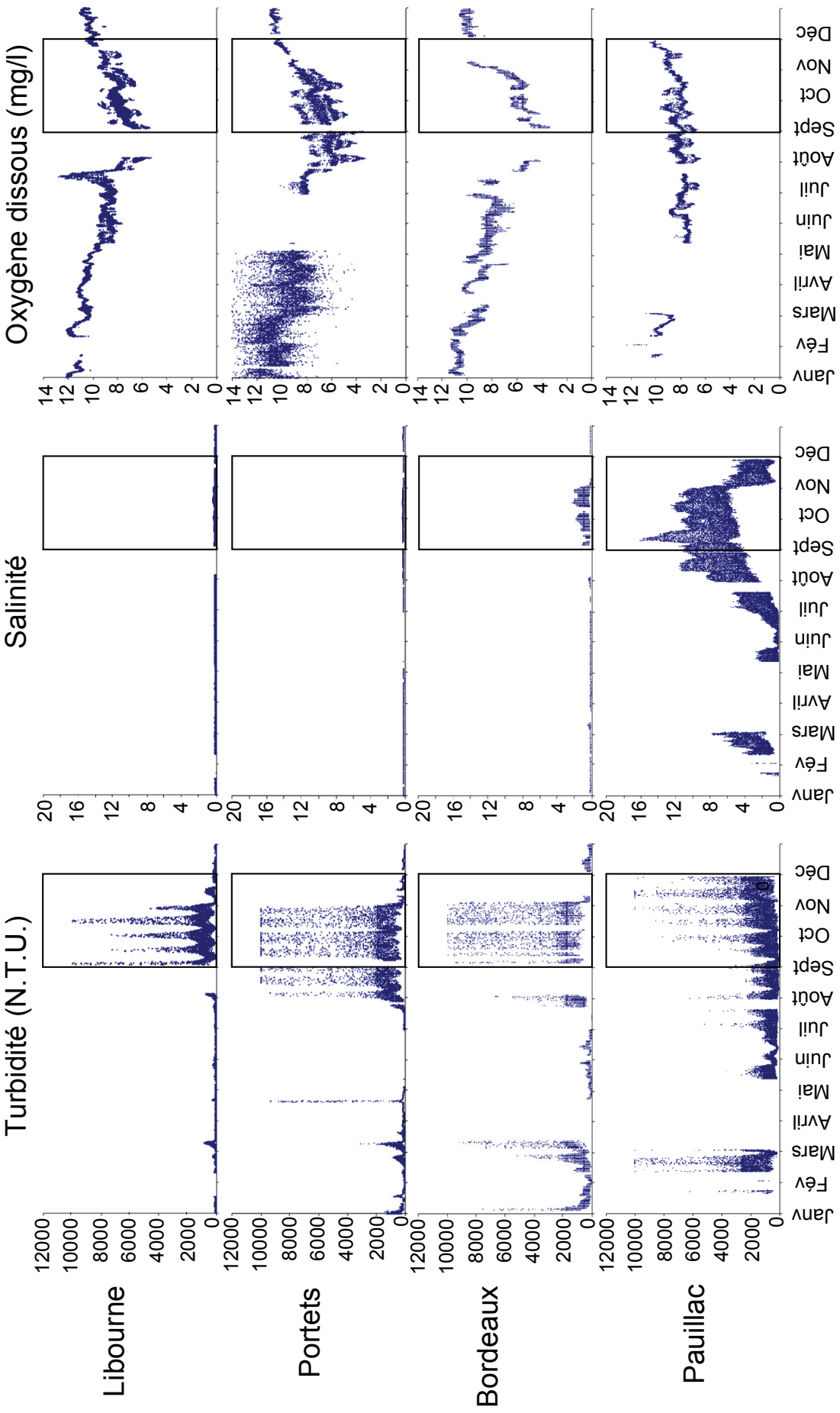

Figure 6.2. *Turbidité (en N.T.U.), salinité et oxygène dissous (en mg/l) enregistrés dans les différents sites du réseau MAGEST en 2008.*

Les résultats montrent que le bouchon vaseux était présent à Bordeaux et à Portets (à proximité de Cadaujac) de septembre à novembre 2008. On distingue les limites aval et amont du bouchon vaseux aux stations de Pauillac et de Libourne avec des pics périodiques de turbidité en phase, correspondant à la périodicité des coefficients de marée. Les maxima de turbidité ont été mesurés lors des forts coefficients indiquant que le bouchon vaseux était situé entre les deux sites. Dès la première crue de novembre, le bouchon vaseux s'est déplacé en aval et la turbidité et les concentrations en MES aux stations de Bordeaux, Portets et Libourne ont diminué (Fig. 6.2).

En fin de période d'étiage (septembre à novembre), l'intrusion saline dans l'estuaire était mesurable à Bordeaux, où les salinités variaient au rythme de la marée de 0 à 2 (Fig. 6.2). Cette intrusion ne se ressentait pas à Libourne ou à Portets (i.e. plus en amont dans les estuaires fluviaux de la Dordogne et de la Garonne). A Pauillac, la salinité oscillait entre 5 et 16. L'augmentation des débits en novembre a éliminé la salinité au site de Bordeaux et diminué celle observée à Pauillac (0 à 5 ; Fig. 6.2).

Les concentrations en O_2 dissous ont augmenté dans chaque site du réseau MAGEST au cours de la période d'exposition des anguilles (Fig. 6.2). La valeur minimale de 3,5 mg/l a été mesurée sur la Garonne à Bordeaux. À Bordeaux, les minima ont été mesurés autour de la basse mer et ont influencé le site de Portets qui présentait lui aussi des concentrations en O_2 dissous dans l'eau faible au début du mois de septembre (4 mg/l ; Fig. 6.2). Ces faibles niveaux d'oxygénation étaient la conséquence de la forte température de l'eau (20 à 23°C à Bordeaux en septembre), de la stagnation des eaux en période d'étiage, de la plus faible dilution des rejets urbains et de la présence du bouchon vaseux et de son cortège de bactéries consommant O_2 pour dégrader la matière organique (Abril et al., 1999).

6.2.1.b. Contribution en Ag dissous et particulaire aux différents sites d'exposition

L'argent est caractérisé comme un élément extrêmement réactif qui a un temps de résidence dans la colonne d'eau très court en raison de son adsorption rapide sur les particules (Sañudo-Whilhelmy et Flegal, 1992 ; Andren et Armstrong, 1999 ; Rozan et Hunter, 2001).

La présence du bouchon vaseux en eau douce (Libourne, Portets) ou faiblement saline (Bordeaux) lors des mois de septembre et d'octobre a augmenté considérablement les forces de sorption pour Ag_D et a fait chuter en conséquence les concentrations de Ag_D en dessous de la limite de détection de l'ICP-MS (0,5 ng/l ; Fig. 6.3). Cependant, à Pauillac, où la salinité est supérieure, les concentrations en Ag_D ont atteint 5,8 ng/l lors du prélèvement de plus forte salinité (S=11,2). Le positionnement plus en aval du bouchon vaseux à partir du mois de novembre a été marqué par des concentrations en Ag_D augmentant dans l'estuaire fluvial malgré l'augmentation des débits (Fig 6.3). A Bordeaux et Cadaujac, ces concentrations ont atteint 0,6 ng/l. Les concentrations en Ag_D dans ces deux sites ont été similaires tout au long de l'expérimentation. Le site de Libourne a présenté une concentration supérieure à ces sites seulement pour la date du 10/11/2008 (1,7 ng/l).

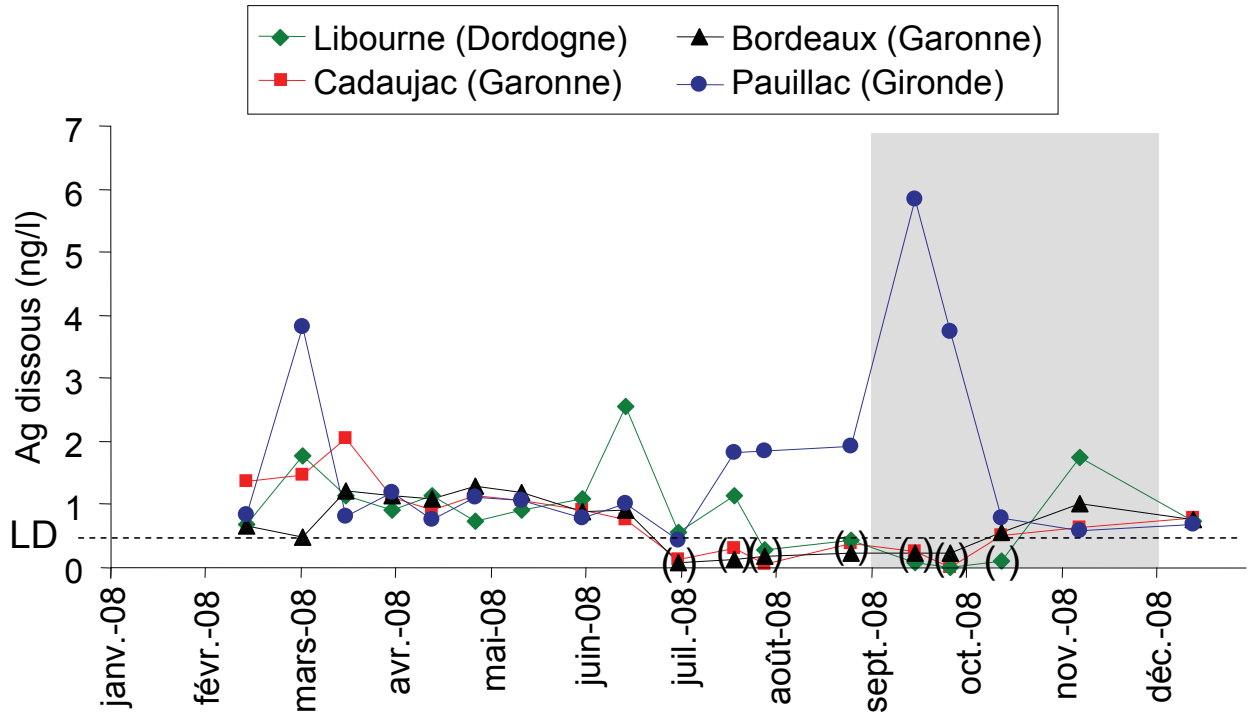

Figure 6.3. *Concentrations en Ag dissous aux différents sites d'exposition des anguilles en cage. La partie grisée correspond à la période d'exposition. LD : limite de détection. Par définition, les valeurs en dessous de cette limite (entre parenthèses) et ne sont montrées que pour information.*

A l'inverse, le site de Pauillac qui recevait le bouchon vaseux à partir du mois d'octobre (Tab. 6.1 ; Fig. 6.2), a présenté des concentrations en Ag_D diminuant au cours de l'expérimentation, reflétant la baisse de la salinité et l'augmentation des concentrations en

MES responsables de la baisse de Ag_D. Cependant, la mesure mensuelle des concentrations en Ag ne permet pas pour ce site de déterminer la gamme réelle de variation des concentrations en Ag_D qui semblent liées avec la salinité (Fig. 6.4), en accord avec les résultats obtenus lors de l'étude de la distribution des concentrations en Ag_D dans la première partie (salinité 0 à 15) du gradient salin de l'estuaire de la Gironde (cf Chap. 5). La distribution des concentrations en Ag_D en fonction de la salinité (Fig. 6.4) ne semble pas suivre une relation linéaire en raison de la compétition maximale entre les forces de sorption des particules et celles des ions chlorures à faible salinité.

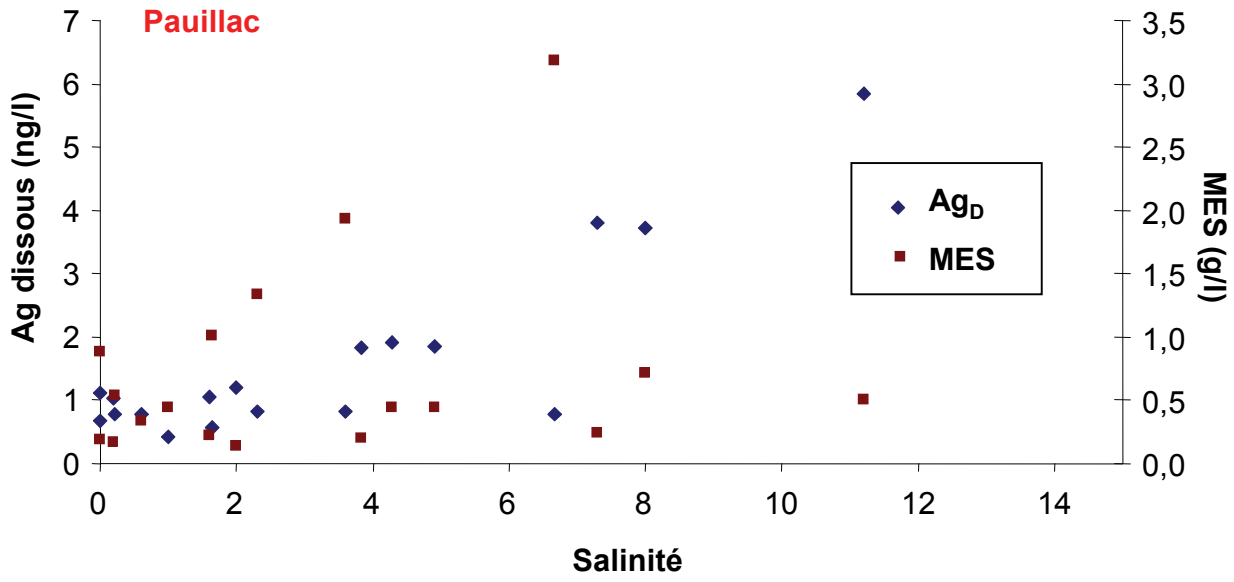

Figure 6.4. *Concentrations en Ag dissous (Ag_D) et en matières en suspension (MES) en fonction de la salinité à Pauillac.*

Les concentrations en Ag_P pendant la période d'exposition des anguilles sont constantes et similaires dans les sites du réseau MAGEST (Fig. 6.5). Lors de cette période, les concentrations en MES à Bordeaux étaient 15 fois supérieures à la moyenne des concentrations du reste de l'année (Fig. 6.6). La présence du bouchon vaseux dans chaque site explique l'homogénéité des résultats (e.g. As, Sb ; Masson et al., 2009).

Le rapport particulaire Ag_P/Th_P utilisé pour normaliser les concentrations métalliques dans le bassin versant de l'estuaire de la Gironde (cf Chap. 4) et affranchir les concentrations en Ag de l'effet granulométrique était de 0,030 à Libourne et Pauillac, de 0,028 à Cadaujac et de 0,029 à Bordeaux lors de la présence du bouchon vaseux (18/09/2008, 29/09/2008 et 16/10/2008). En accord avec les résultats précédents (cf Chap. 4 et 5), les particules du

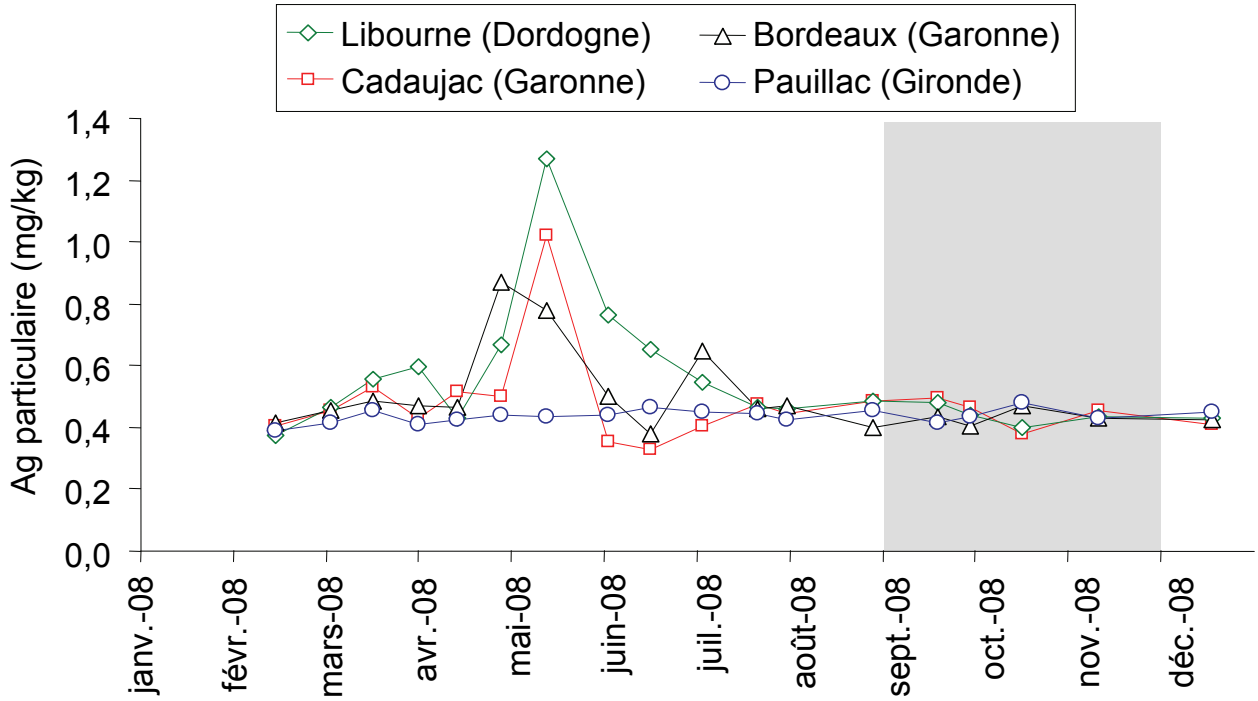

Figure 6.5. *Concentrations particulaires en Ag aux différents sites d'exposition des anguilles en cage. La partie grisée correspond à la période d'exposition des anguilles sur le terrain.*

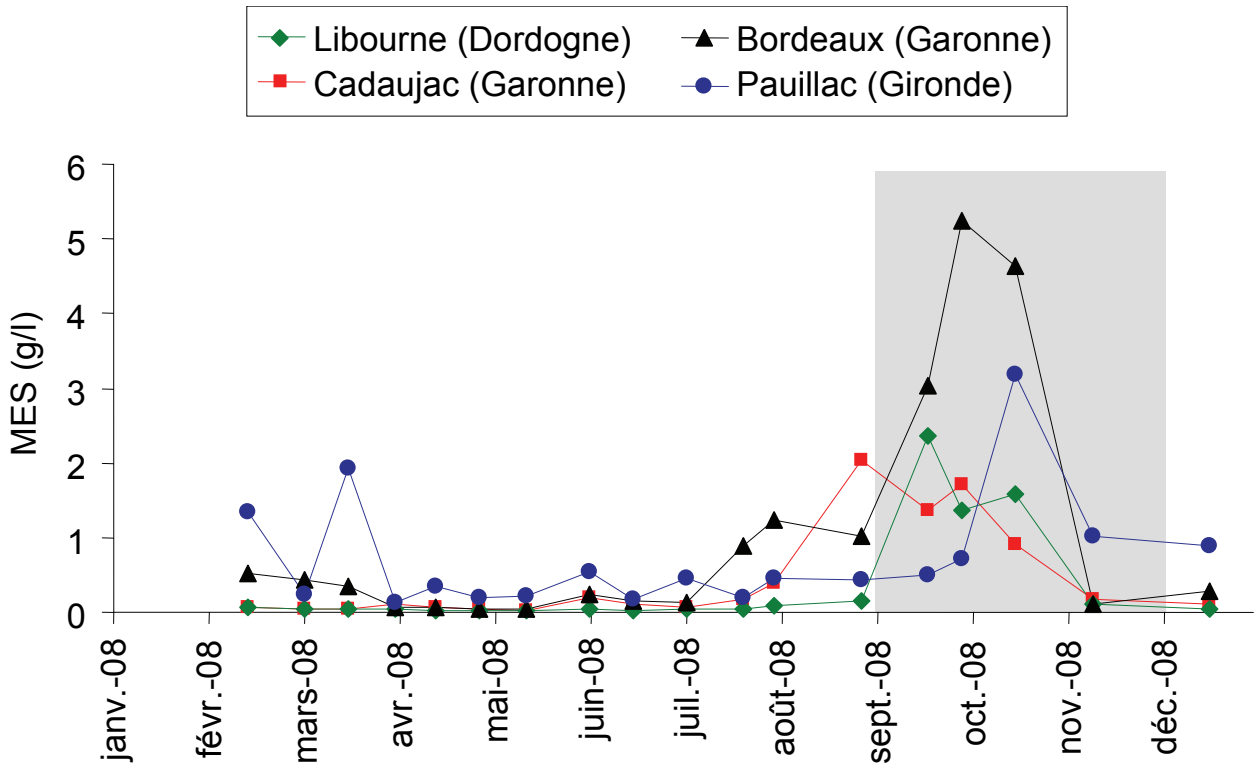

Figure 6.6. *Concentrations en Matières En Suspension (MES) aux différents sites du réseau MAGEST déterminées par des prélèvements ponctuels au cours de l'année 2008. La partie grisée correspond à la période d'exposition des anguilles sur le terrain.*

bouchon vaseux présentent des valeurs Ag_P/Th_P quasiment similaires au bruit de fond géochimique du bassin versant (estimé à Ag_P/Th_P=0,026 ; Chap. 4). De plus, un rapport identique est obtenu dans la fraction résiduelle des MES collectées à Bordeaux en 2008 ayant subi une attaque HCl 1 M (0,22±0,05 mg/kg ; Chap. 5), suggérant que très peu de Ag_P porté par les particules du bouchon vaseux était biodisponible lors de l'expérimentation.

6.2.1.c. Concentrations en Ag dans les crevettes qui ont alimenté les anguilles

La nourriture des anguilles en cage a été adaptée à leurs besoins physiologiques en fonction de leur poids et de la température de l'eau, et ajustées selon la quantité de restes retrouvés dans les cages. Le contrôle des rations a permis d'une part d'empêcher le cannibalisme et d'autre part de limiter la prise de nourriture extérieure (e.g. gammares). Afin de pouvoir distinguer la contamination des anguilles par voie trophique de celle par voie directe, les anguilles ont été nourries selon deux traitements. Dans chacun des sites, deux cages de 10 anguilles étaient approvisionnées par des crevettes pêchées dans le domaine de Certes et deux cages identiques l'étaient par des crevettes pêchées en Gironde (Saint-Estèphe).

Les concentrations en Ag dans les crevettes qui ont nourries les anguilles ont été mesurées pour un aliquot de chaque lot d'un kilo fourni par les pêcheurs professionnels (Fig. 6.7). Dans la figure 6.7, chaque valeur (n) correspond à la concentration en Ag de trois crevettes d'un même lot minéralisées ensemble. L'assemblage des espèces dans chaque lot n'a pas été déterminé. Trois espèces de crevettes « roses » sont exploitées dans le Bassin d'Arcachon: *Palaemon serratus* (appelée « santé » ou « bouquet »), *Palaemon elegans* (appelée « ronde ») et *Palaemon adspersus* (appelée « bouquet balte »). En Gironde, le site de pêche des crevettes blanches était localisé entre Pauillac et Saint-Estèphe (salinité comprise entre 0 et 15). D'après l'étude des espèces de crevettes exploitées par les pêcheurs professionnels en 2005 et 2007, seule l'espèce *P. longirostris* était capturée dans cette zone de l'estuaire, l'espèce *P. macrodactylus* étant localisée plus en aval (Béguer, 2009 ; Béguer et al., soumis).

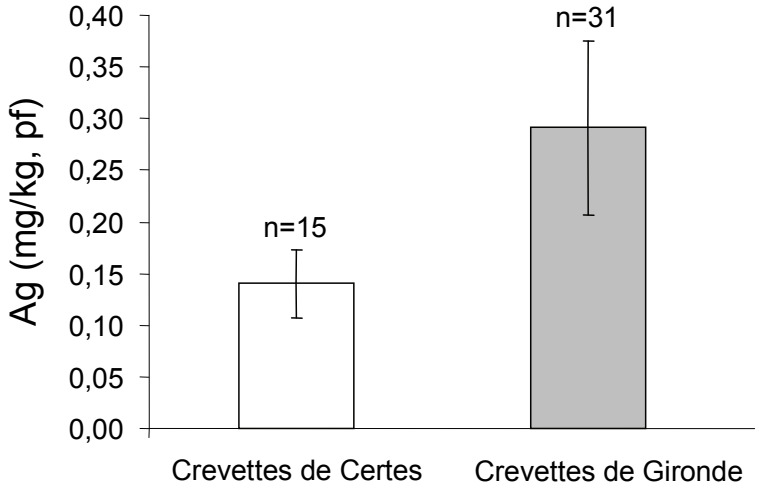

Figure 6.7. *Concentrations en Ag en mg/kg de poids frais de crevette (pf) dans les crevettes pêchées dans le domaine de Certes et en Gironde qui ont nourries les anguilles en cage lors l'expérimentation sur le terrain. Chaque valeur n correspond à la concentration en Ag de trois crevettes d'un même lot de pêche minéralisées ensemble.*

La moyenne des concentrations en Ag dans les crevettes de Gironde de 0,29±0,08 mg/kg, pf est significativement supérieure (W-M-W ; U=0,0 ; n=31+15 ; p<0,001) à celle des crevettes de Certes (0,14±0,03 mg/kg, pf), confirmant le choix de ces sites de pêche pour une exposition trophique expérimentale à un niveau réaliste de contamination.

6.2.2. Concentrations en Ag des organes des anguilles après trois mois d'exposition dans des conditions environnementales

Dans chacun des quatre sites étudiés (Libourne, Cadaujac, Bordeaux et Pauillac), quatre cages contenant chacune 10 anguilles ont permis de tester deux traitements différents en duplicat (Fig. 6.8).

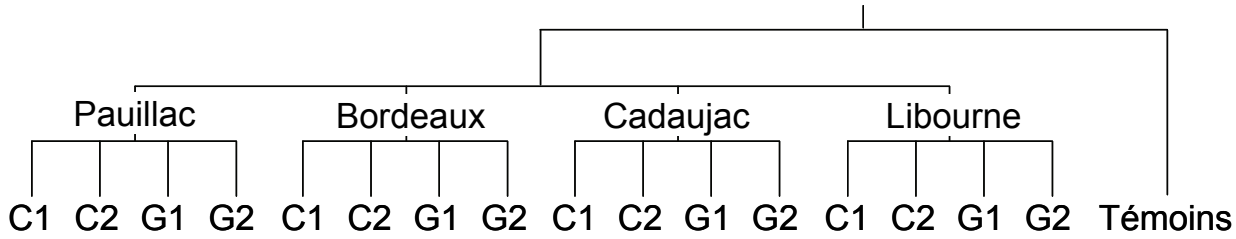

Figure 6.8. *Plan d'expérimentation de terrain : quatre sites (Pauillac, Bordeaux, Cadaujac et Libourne), deux traitements par site (Certes (C) ou Gironde (G)) répétés en duplicat (1 et 2) et un lot d'anguilles témoins analysé au départ de l'expérimentation.*

Le premier traitement concernait l'effet du milieu (voie directe) sur la contamination des anguilles. Par conséquent, la contamination trophique a été limitée pour ce traitement par un apport contrôlé de nourriture faiblement concentré en Ag (i.e. les crevettes de Certes) aux anguilles. Le second traitement visait à mettre en évidence l'effet supplémentaire de la contamination par la nourriture (voie trophique) en fournissant aux anguilles des crevettes girondines dont les concentrations en Ag sont deux fois supérieures à celles de Certes fournies dans le premier traitement. Après trois mois d'exposition, cinq anguilles par cage ont été disséquées et analysées. Leurs niveaux de contamination ont été comparés aux niveaux mesurés au départ de l'expérimentation (t_0) pour 5 anguilles du même lot.

Au cours de cette expérimentation de terrain, la totalité des anguilles sacrifiées, disséquées et analysées étaient des anguilles femelles à l'exception de trois anguilles du site de Pauillac (une dans le réplicat 2 des anguilles nourries aux crevettes de Gironde et 2 dans le réplicat 2 des anguilles nourries aux crevettes de Certes). Le site de Libourne a été abandonné en raisons de vols successifs. Le remplacement des anguilles ne nous aurait alors pas permis d'obtenir des résultats comparables entre les sites (durée et période d'exposition).

6.2.2.a. Mesure de l'exposition directe

Afin de déterminer uniquement l'effet de l'exposition directe (i.e. effet du site) sur la contamination des anguilles en Ag, seules les concentrations dans les anguilles nourries aux crevettes de Certes (dont les concentrations en Ag étaient inférieures aux crevettes de la Gironde ; Fig. 6.7) seront comparées entre les différents sites, les anguilles témoins étant traitées comme un site supplémentaire. Dans un premier temps, les anguilles des deux réplicats d'un même traitement ont été regroupées par site et comparées entre elles (Fig. 6.9).

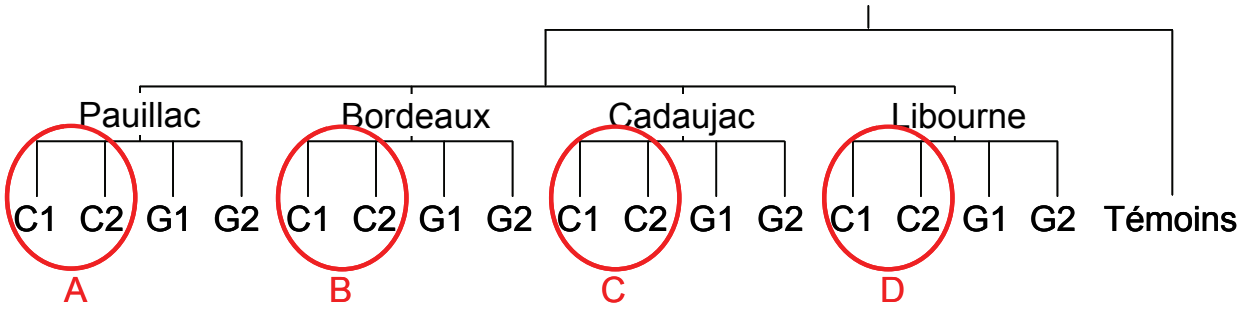

Figure 6.9. *Regroupement des données pour la détermination de l'effet site sur la contamination des anguilles en Ag durant les trois mois d'exposition. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.*

Dans un deuxième temps, les anguilles ont été comparées en étant nommées à la fois par leur site d'exposition et le numéro de leur réplicat (Fig. 6.10).

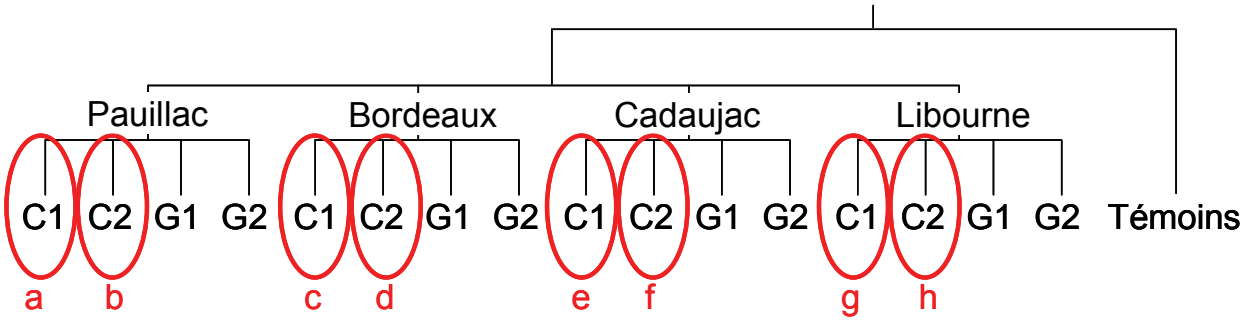

Figure 6.10. *Comparaison de l'ensemble des réplicats et du lot témoin pour la détermination de l'effet site. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.*

Aucune différence significative des concentrations en Ag dans le muscle, l'estomac, l'intestin, les reins et le foie n'existe entre les anguilles témoins, les anguilles exposées à Pauillac, à Bordeaux et à Cadaujac (Fig. 6.13 et 6.14). Cependant il existe une différence significative des concentrations dans les branchies (K-W ; H (3, N=29)=20,2 ; p<0,001). **Les concentrations en Ag des branchies des anguilles exposées à Cadaujac sont significativement inférieures à celles des anguilles témoins (p<0,01) et des anguilles exposées à Pauillac (p<0,001)**. L'analyse des réplicats indique que cette différence globalement significative (K-W ; H (6, N=29)=20,9 ; p<0,001) est liée à des concentrations en Ag des branchies supérieures pour le réplicat 1 des anguilles de Pauillac (p<0,05) et les anguilles témoins (p<0,01) par rapport à celles des anguilles du réplicat 1 exposées à Cadaujac.

Selon Wood et al. (2002), les branchies sont l'organe majeur d'échange avec le milieu et accumulent rapidement Ag. Dans leurs travaux, ces auteurs ont exposé des anguilles jaunes (*Anguilla anguilla*) durant 24h à 1,3 µg/l du radioisotope ^{110m}Ag(I) sous forme ionique et sous forme de chlorocomplexes et ont mesuré la dépuration des branchies pendant 67 jours (Wood et al., 2002). Leurs résultats indiquent que les anguilles accumulent trois fois plus Ag dans leurs branchies lorsqu'elles sont exposées aux chlorocomplexes plutôt qu'à l'ion libre Ag^+. Selon ces auteurs, la spéciation de Ag lors de la contamination n'a pas d'effet sur sa redistribution depuis les branchies vers les autres organes. Ainsi, les anguilles pêchées dans le domaine de Certes (eau salée) présentaient déjà un niveau d'exposition à Ag_D qui a été conservé à Pauillac (eau salée) mais qui a diminué aux sites de rivière Bordeaux et Cadaujac. Ces résultats sont en accord avec la pression d'exposition des anguilles dans l'estuaire de la

Gironde où les concentrations en Ag_D mesurées au cours de la période d'exposition étaient homogènes entre Bordeaux et Cadaujac et inférieures à celles mesurées à Pauillac (e.g. Cadaujac : <0,6 ng/l ; Pauillac : 0,6 à 6 ng/l ; Fig. 6.3).

6.2.2.b. Mesure de l'exposition trophique

Aucun effet de site n'ayant été mis en évidence pour les organes à l'exception des branchies des anguilles de Pauillac, on peut alors supposer que leur exposition était similaire à chaque site. Selon cette hypothèse, nous avons groupé les concentrations en Ag pour un même organe et pour un même traitement, tous sites confondus, dans une première analyse des données (i.e. on a comparé l'ensemble des anguilles nourries aux crevettes de Certes à l'ensemble des anguilles nourries aux crevettes de Gironde et aux anguilles témoins ; Fig. 6.11).

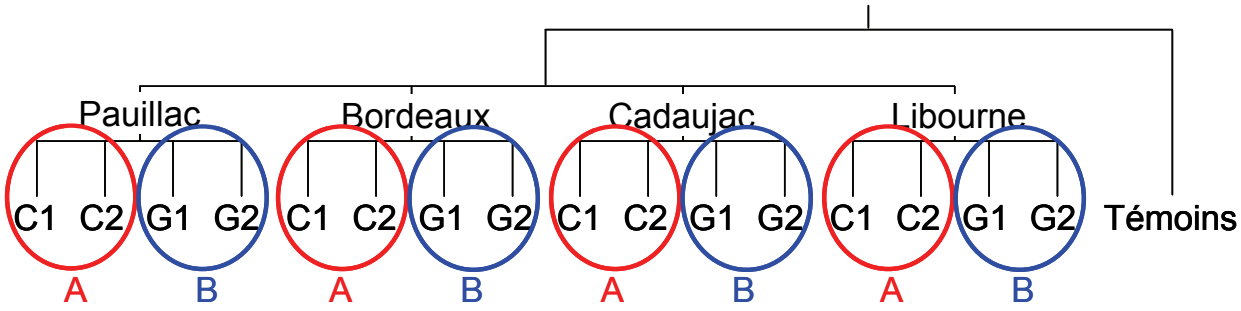

Figure 6.11. *Regroupement des valeurs en Ag pour un même organe et pour un même traitement tous sites confondus. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.*

Dans ce cas, aucune différence significative entre les deux traitements ou entre chacun des traitements et les anguilles témoins (i.e. au temps t_0) n'existe après 3 mois d'exposition trophique pour les concentrations en Ag dans le muscle (K-W ; H (2 ; N=61)=17,5 ; p=0,16 ; Fig. 6.13) ou dans les intestins (K-W ; H (2 ; N=61)=2,5 ; p=0,38 ; Fig. 6.14). A l'inverse, des concentrations significativement différentes existent dans les branchies (K-W ; H (2 ; N=61)=7,3 ; p<0,05), l'estomac (K-W ; H (2 ; N=61)=22,4 ; p<0,001), les reins (K-W ; H (2 ; N=61)=17,5 ; p<0,001) et le foie (K-W ; H (2 ; N=61)=6,1 ; p<0,05) (Fig. 6.11, 6.13 et 6.14). Une analyse plus poussée a donc été menée sur ces organes.

La comparaison des concentrations en Ag des anguilles nourries aux crevettes de Certes à celles des anguilles nourries aux crevettes de Gironde et aux anguilles témoins pour chaque organe a cette fois été menée dans chaque site et pour chaque réplicat (Fig. 6.12).

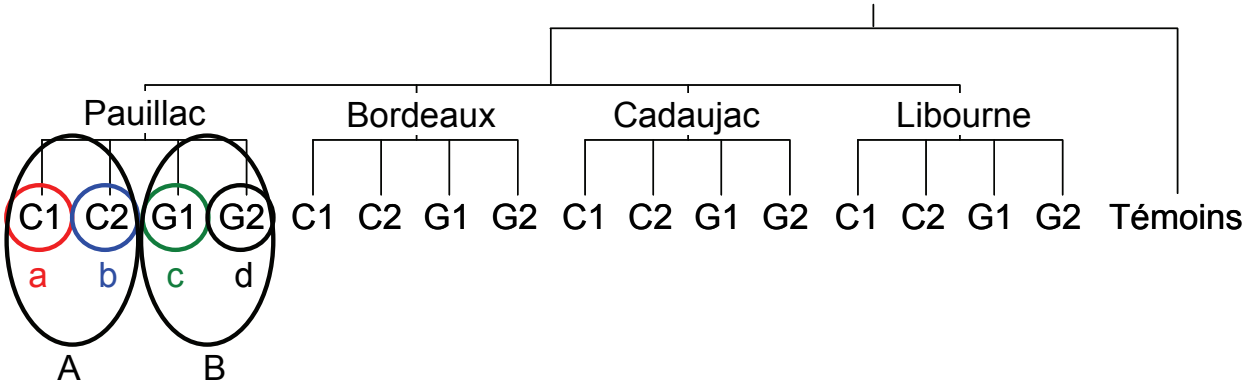

Figure 6.12. *Comparaison des traitements (A et B) et des réplicats (a,b,c et d) entre eux ainsi qu'avec les anguilles témoins, exemple pour le site de Pauillac. C : nourries aux crevettes de Certes. G : nourries aux crevettes de Gironde.*

Les résultats ont montré que :

- ✓ Dans **les branchies** (Fig. 6.13), les concentrations en Ag significativement plus faibles des anguilles alimentées avec des crevettes de Certes au site de Bordeaux ($p<0,01$) et de Cadaujac ($p<0,01$) par rapport au niveau de concentration du lot témoin indiquent une dépuration de cette organe dans le temps qui n'est pas visible à Pauillac ($p=0,51$) où l'exposition par voie directe est plus importante (cf 6.1.2.a). Bien que significatives, ces différences ne sont dues qu'à l'effet d'un seul réplicat (« Certes 2 » pour Bordeaux, $p<0,05$; « Certes 1 » pour Cadaujac, $p<0,01$). **Aucune différence significative n'existe entre les concentrations de Ag dans les branchies des anguilles pour les deux traitements quelque soit le site d'exposition.** Par conséquent, aucune redistribution de Ag de l'intestin vers les branchies n'est démontrée.

- ✓ Dans **les reins**, l'accumulation de Ag (Fig. 6.14) montre l'existence de différences significatives lors de l'analyse globale des anguilles témoins et celles ayant subit les deux traitements pour les sites de Pauillac (K-W ; $H (2 ; N=21)=9,0$; $p<0,05$) et de Bordeaux (K-W ; $H (2 ; N=25)=6,3$; $p<0,05$). Cependant, le test des comparaisons

multiples indique seulement une accumulation de Ag supérieure dans les reins des anguilles de Pauillac ayant été nourries aux crevettes girondines par rapport aux anguilles nourries aux crevettes de Certes ($p<0,05$). L'analyse des données à l'échelle des réplicats ne permet pas de mettre en évidence une différence statistique entre les différents traitements et entre les traitements et les anguilles témoins.

- ✓ Dans **l'estomac**, les concentrations de Ag sont significativement différentes entre les deux traitements ($p<0,01$) au sein de chaque site (Fig. 6.13). Ces différences significatives existent aussi dans la comparaison des réplicats ($p<0,05$). **Les niveaux de concentration de Ag dans l'estomac des anguilles nourries aux crevettes de Gironde sont supérieurs aux niveaux des anguilles témoins aux sites de Cadaujac ($p<0,01$), de Bordeaux ($p<0,001$) et de Pauillac ($p<0,001$)**. Seuls les estomacs des anguilles d'un des réplicats « Gironde » de chaque site présentent des concentrations en Ag significativement supérieures à celles du lot témoin ($p<0,05$). De plus, aucune différence significative n'existe entre les concentrations de Ag dans l'estomac des anguilles témoins et celles des anguilles nourries aux crevettes de Certes, signifiant que le contrôle de la nourriture a été effectif durant le temps d'exposition (i.e. les anguilles ne se sont pas contaminées de manière mesurable par d'autres sources de nourriture telles que les gammares ou les crevettes sauvages).

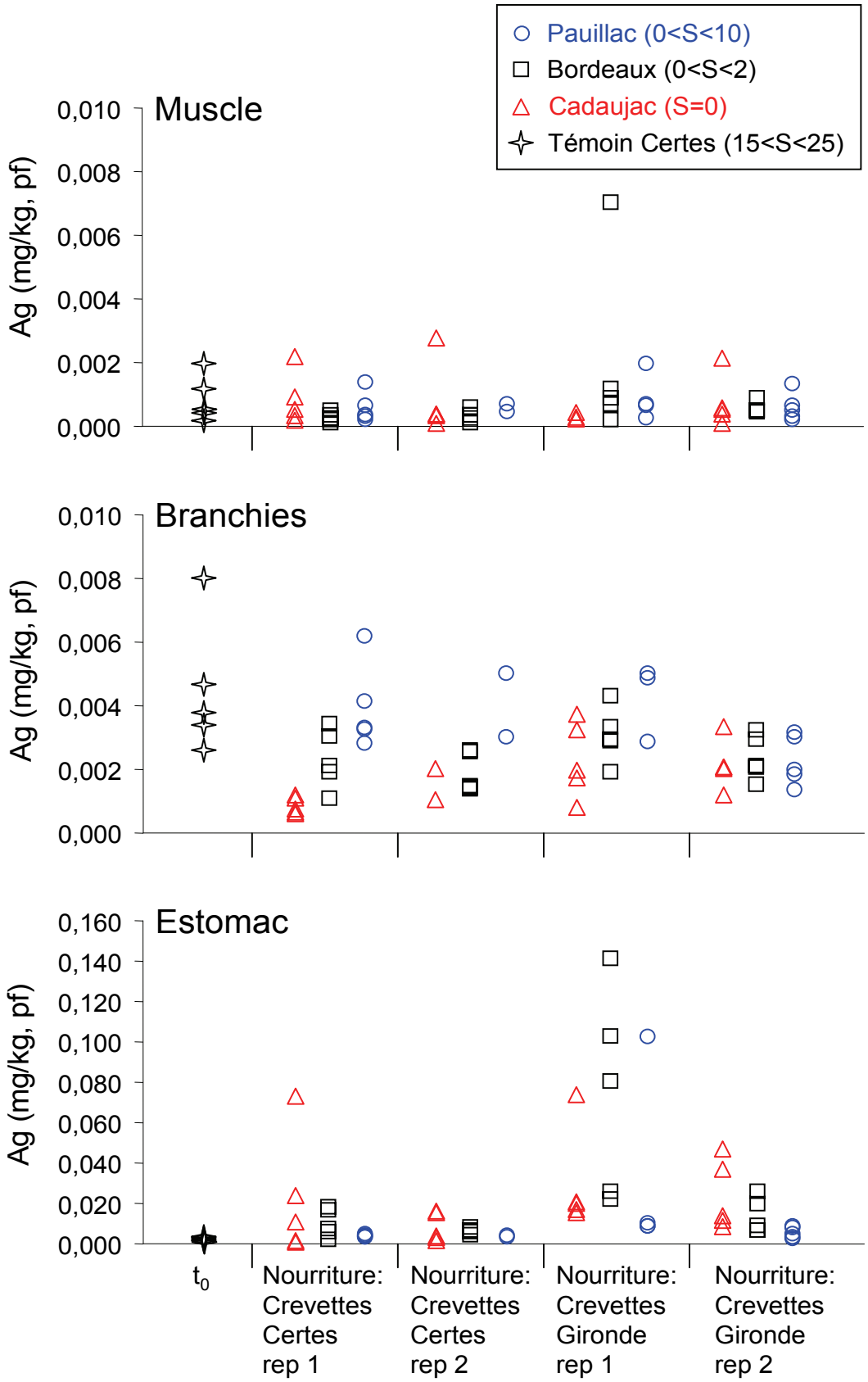

Figure 6.13. *Concentrations en Ag en mg/kg de poids frais (pf) dans le muscle, les branchies et l'estomac des anguilles exposées en cage à Cadaujac, Bordeaux et Pauillac. T_0 : Anguilles témoins.*

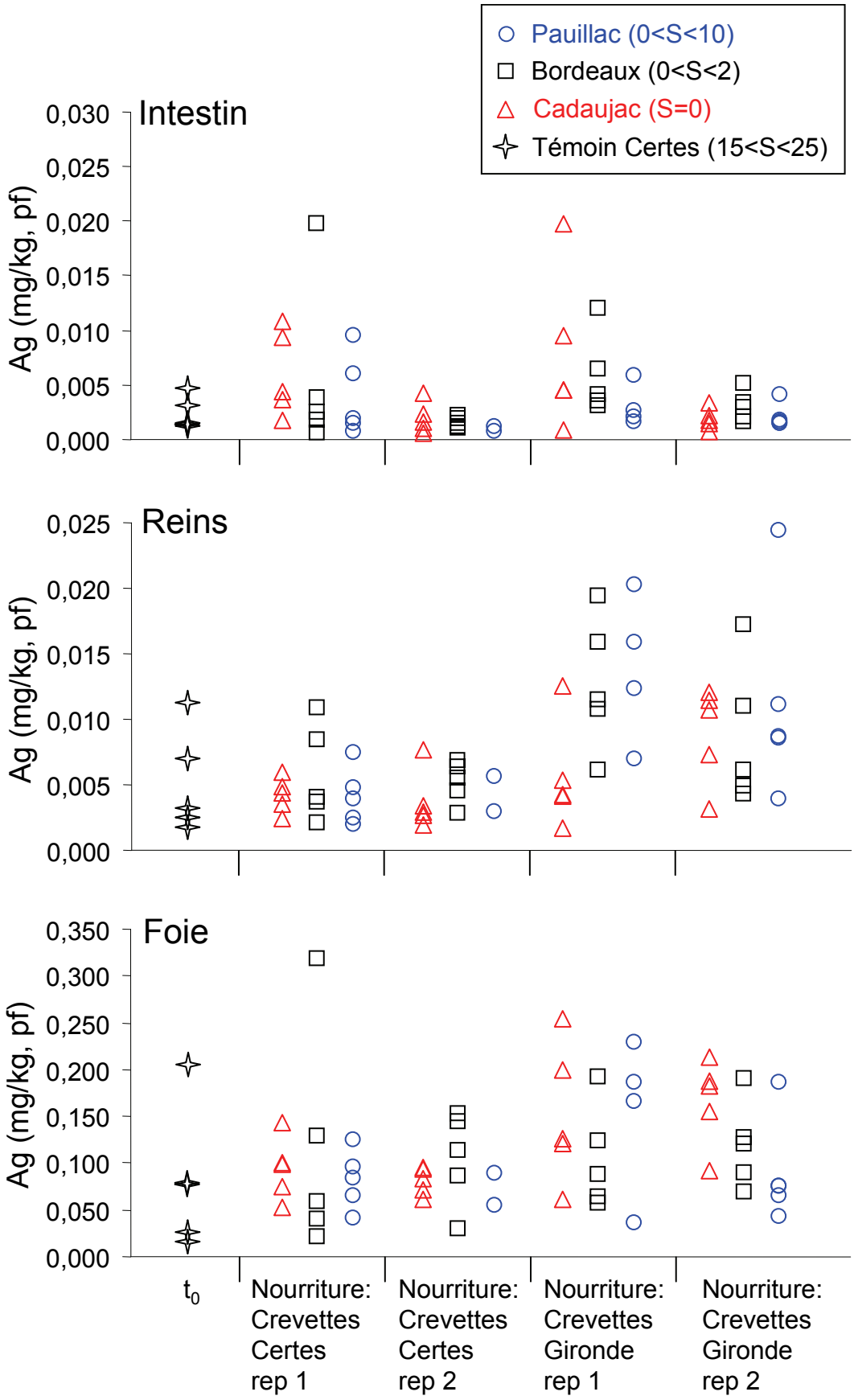

Figure 6.14. *Concentrations en Ag en mg/kg de poids frais (pf) dans l'intestin, les reins et le foie des anguilles exposées en cage à Cadaujac, Bordeaux et Pauillac. T_0 : Anguilles témoins.*

- ✓ **Le foie** (Fig. 6.14), considéré comme l'organe de stockage de Ag (e.g. Galvez et al., 1998, 2002 ; Hogstrand et al., 1996, 2003), ne présente pas d'écart significatif de l'accumulation de Ag entre les traitements ou entre chaque traitement et le lot témoin, excepté pour le site de Cadaujac ($p<0,05$), pour lequel cependant, l'analyse des comparaisons multiples ne permet pas de conclure. **Les concentrations en Ag du foie sont supérieures d'un ordre de grandeur à celles mesurées dans le muscle, les branchies, l'intestin et les reins et deux fois supérieures à celles mesurées dans l'estomac (Fig. 6.13 et 6.14), ce qui peut expliquer l'absence de signal à ce niveau de contamination et pour cette période limitée d'exposition.**

La méthode de « caging » a été testée dans le cadre de cette étude afin de connaître le potentiel des anguilles à être des accumulateurs de pollutions métalliques et organiques ainsi que des indicateurs de leurs effets physiologiques. Ces résultats sont en cours de synthèse (Renault et al., en prép.). Dans le cas de Ag, nous avons montré qu'après trois mois d'exposition des anguilles en milieu naturel :

- ✓ L'accumulation de Ag par voie directe dans les branchies des anguilles semble supérieure en matrice salée (i.e. à Pauillac et dans le domaine de Certes) en comparaison de ce qu'elle est en eau douce (i.e. Bordeaux et Cadaujac) où on observe une dépuration des branchies.

- ✓ Aucun impact de la contamination en Ag par voie trophique n'a pu être mis en évidence pour les muscles, les intestins et les branchies.

- ✓ L'accumulation de Ag dans l'estomac des anguilles nourries aux crevettes de Gironde indique que cet organe permet de déceler une contamination trophique de niveau environnemental.

- ✓ L'intensité de la contamination trophique (de niveau environnemental) et/ou la durée d'exposition de 3 mois ne sont pas suffisantes pour enregistrer une accumulation de Ag dans le foie, un organe d'accumulation présentant des concentrations dix fois supérieures aux autres organes étudiés excepté l'estomac.

A la vue de ces résultats, **qu'en est-il de l'accumulation de Ag chez anguilles sauvages de l'estuaire et de la répartition de Ag dans leurs organes ? Cette accumulation est-elle fonction de la pression d'exposition en Ag_D ?**

Pour répondre aux questions précédentes, des anguilles européennes (*Anguilla anguilla*) sauvages ont été pêchées à Bordeaux (Garonne), Fronsac (Dordogne), Saint Estèphe (estuaire central) et Saint Vivien (estuaire aval) en collaboration avec des pêcheurs professionnels de l'estuaire de la Gironde pendant la période juillet-septembre 2009 (Fig. 6.15). Les résultats ont été mis en relation avec ceux mesurés pour des anguilles européennes échantillonnées à Golfech (Garonne amont), Tuilières (Dordogne amont), Bordeaux (Garonne), Pauillac (estuaire central), Conac (estuaire central) et Saint Vivien (estuaire aval) en 2005 durant la thèse de Fabien Pierron (2007) et en collaboration avec le Syndicat Mixte pour le Développement Durable de l'Estuaire de la Gironde (SMIDDEST ; Fig. 6.15).

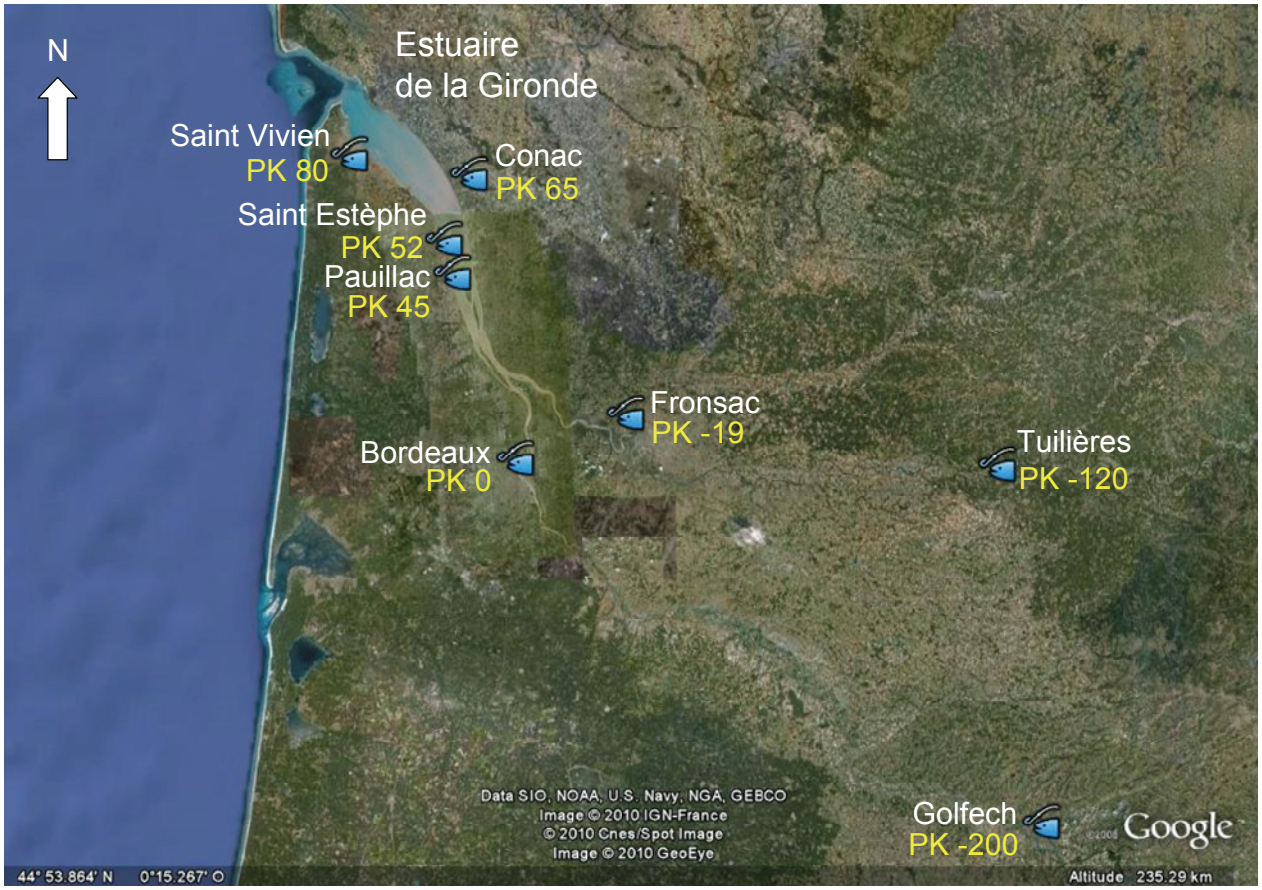

Figure 6.15. *Localisation des sites de pêches des anguilles européennes lors de cette étude en 2009 et lors de la campagne menée en 2005.*

6.3. Bioaccumulation de Ag chez les anguilles sauvages

En analysant des anguilles sauvages, nous faisons l'hypothèse que ces individus ont intégré le signal de leur exposition à Ag dans leur lieu de pêche. Toutefois, la question de la représentativité de cet échantillonnage se pose au vu des capacités migratrices de l'anguille. Deux comportements sont distingués chez ce poisson (Daverat et al., 2006). Les anguilles sont soit sédentaires et attachées à un habitat particulier (eau douce, saumâtre ou marine) ou soit en mouvement entre les différents habitats. Selon Daverat et Thomas (2006), dont l'étude concerne l'estuaire de la Gironde, la quasi-totalité (>95%) des anguilles pêchées en rivière (n=163), même influencée par la marée, réside en rivière. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Laffaille et al. (2005) pour la rivière « Le Frémur » en Bretagne. Cependant, une plus grande variabilité dans l'occupation des habitats existe pour les anguilles pêchées tout au long de l'estuaire de la Gironde (n=162 ; Daverat et Thomas, 2006) où globalement :

- 44% des anguilles résidaient effectivement dans l'estuaire,
- 27% ont tout d'abord vécue en rivière,
- 15% résident en rivière (i.e. ont été pêchées dans l'estuaire mais n'ont pas intégré le signal estuarien probablement en raison d'une migration récente),
- 12% sont des migrateurs saisonniers
- et 2% sont des anguilles résidant premièrement en eau marine avant de coloniser les eaux saumâtres de l'estuaire.

Ces auteurs constatent, plus en détail, une augmentation de l'hétérogénéité des comportements dans l'utilisation des habitats avec la proximité des rivières, i.e. le pourcentage d'anguilles « de rivière » est nul à PK100 et de 32% dans la partie amont de l'estuaire (PK30). Par conséquent, nous devons attendre une grande variabilité des résultats dans les sites estuariens en opposition à ceux obtenus en rivière.

D'autre part, les anguilles jaunes américaines (*A. rostrata*), qui ont un comportement similaire à l'espèce européenne (Daverat et al., 2006), montrent un degré de fidélité important à leur territoire dans une étude où 56% des anguilles capturées, transportées de 10 à 17 km (en partie amont et en partie en aval) puis relâchées ont regagné leur site de capture en moins de 80h (Parker, 1995).

L'histoire de vie des anguilles (i.e. temps de résidence dans le site de capture) peut être à la source de disparité des concentrations en Ag mesurées dans les anguilles prélevées tout au long du continuum fluvio-estuarien de la Gironde, en influençant par exemple :

- la voie d'exposition majoritaire et ainsi l'accumulation de Ag dans les organes exposés,
- le temps d'exposition,
- les conditions d'exposition (i.e. concentrations en Ag^+ et en différents complexes Ag-Cl) liées à la position du site dans le gradient salin de l'estuaire de la Gironde,
- le régime alimentaire (i.e. peut avoir une influence sur l'importance de l'exposition trophique),
- les moyens de détoxication des différentes formes de Ag.

En accord avec les résultats de Daverat et Thomas (2006 ; les anguilles ont un comportement sédentaire pour la quasi-totalité d'entre elles en rivière et la majorité d'entre elles en estuaire) et ceux de Parker (1995 ; fidélité des anguilles à leur territoire), les anguilles seront considérées comme représentatives de leur lieu de capture. Cependant, une analyse plus détaillée de l'histoire de vie de ces anguilles (analyse du rapport Sr/Ca dans les otolithes) fera l'objet d'une des perspectives de cette étude.

6.3.1. Organotropisme de Ag chez les anguilles *A. anguilla*

6.3.1.a. Au sein d'un même site :

L'objectif est de déterminer quels sont les organes d'intérêt pour l'étude de la contamination des anguilles en Ag. Pour cela, nous avons analysé les concentrations en Ag dans le muscle, les branchies, l'estomac, l'intestin, les reins et le foie des anguilles pêchées en 2009 dans les deux sites les plus contrastés, Fronsac (Dordogne) et Saint Vivien (estuaire aval ; Fig. 6.16).

Les concentrations en Ag sont significativement différentes d'une part, entre les organes des anguilles de Fronsac (K-W ; $H(5, N=70)=59,6$; $p<0,001$) et d'autre part, entre les organes des anguilles de Saint Vivien (K-W ; $H(5, N=52)=36,7$; $p<0,001$).

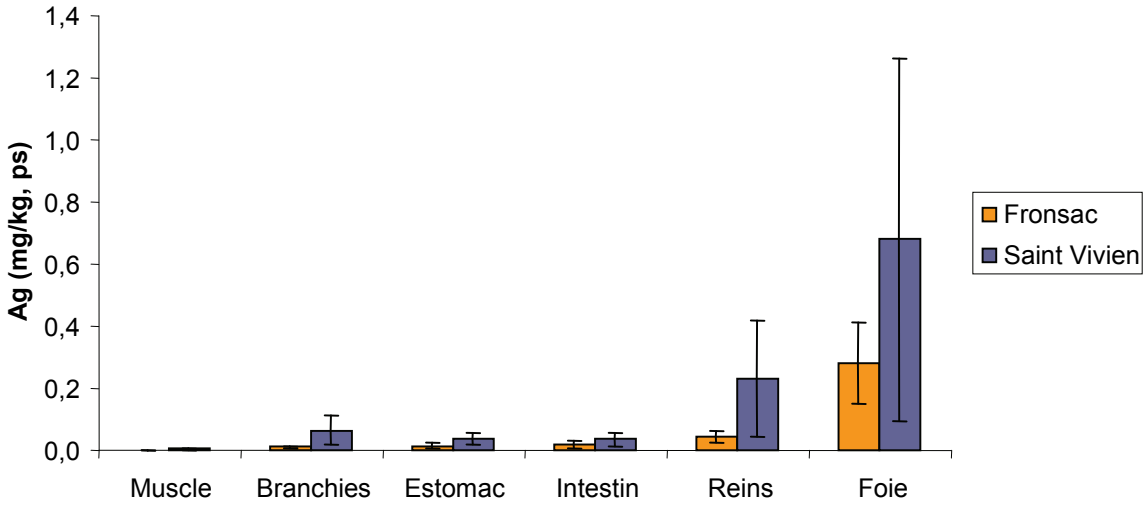

Figure 6.16. *Organotropisme de Ag (moyenne et écart type) chez les anguilles européennes de l'estuaire de la Gironde pêchées à Fronsac (n=12 ; S=0) et à Saint Vivien (n=12 ; 15<S<20) en 2009.*

Parmi les six organes étudiés, le muscle (i.e. le tissus le plus important pour la consommation humaine) est l'organe présentant les concentrations en Ag les plus faibles, comprises entre $0{,}1.10^{-3}$ et 12.10^{-3} mg/kg, ps, alors que le foie présente les concentrations en Ag les plus élevées dans chaque site, avec en moyenne 0,28±0,13 mg/kg, ps à Fronsac et 0,68±0,58 mg/kg, ps à Saint Vivien (Fig. 6.15).

Tableau 6.2*. Comparaison statistique (comparaison multiple des rangs moyens) des concentrations en Ag entre les organes des anguilles de Fronsac (n=12). « ≠ » : différence significative (p<0,05) ; « ns » : non significatif.*

Fronsac	Muscle	Branchies	Estomac	Intestin	Reins	Foie
Muscle		ns	≠	≠	≠	≠
Branchies	ns		ns	ns	≠	≠
Estomac	≠	ns		ns	ns	≠
Intestin	≠	ns	ns		ns	≠
Reins	≠	≠	ns	ns		ns
Foie	≠	≠	≠	≠	ns	

Les concentrations dans le foie sont significativement supérieures à celles des autres organes ($p<0,05$) à l'exception des reins à Fronsac (Tab. 6.2) Saint Vivien (Tab. 6.3) et des branchies à Saint Vivien (Tab. 6.3). Le foie est justement considéré dans la littérature comme l'organe d'accumulation de Ag (e.g. Galvez et al., 2002 ; Hogstrand et al., 2003). Nos résultats montrent que les reins présentent des concentrations tout aussi importantes que celles du foie.

Tableau 6.3*. Comparaison statistique (comparaison multiple des rangs moyens) des concentrations en Ag entre les organes des anguilles de Saint Vivien (n=12). « ≠ » : différence significative (p<0,05) ; « ns » : non significatif.*

Saint Vivien	Muscle	Branchies	Estomac	Intestin	Reins	Foie
Muscle		ns	ns	ns	≠	≠
Branchies	ns		ns	ns	ns	ns
Estomac	ns	ns		ns	ns	≠
Intestin	ns	ns	ns		ns	≠
Reins	≠	ns	ns	ns		ns
Foie	≠	ns	≠	≠	ns	

6.3.1.b. Dans deux sites opposés : Fronsac (Dordogne) et Saint Vivien (estuaire aval)

L'objectif est de comparer les concentrations en Ag des organes des anguilles entre les sites Fronsac et Saint Vivien, afin de déterminer quels sont les organes susceptibles d'être marqué par l'exposition des anguilles à Ag dans l'ensemble des sites étudiés dans l'estuaire de la Gironde.

Les branchies, l'estomac et les intestins sont les organes qui effectuent des échanges directs avec le milieu extérieur. Ces trois organes présentent des concentrations en Ag supérieures chez les anguilles de Saint Vivien par rapport à celle de Fronsac (Tab. 6.4). Ces résultats sont en accord avec ceux de l'expérimentation de terrain et confirment que l'accumulation de Ag dans les branchies des anguilles reflète leur exposition par voie directe dans les matrices salées. Cependant, comme le montre Hogstrand et al. (2003), une dépuration de 3h seulement, dans une eau exempte de Ag, suffit à réduire de 93-95% l'accumulation de Ag dans les branchies d'anguilles préalablement exposées à 1,3 µg/l de ^{110m}Ag pendant 24h, alors

qu'aucun changement de concentration n'est mesuré dans le foie pendant 67 jours. Afin d'éviter le risque lié à une contamination/décontamination exceptionnelle, seuls les organes internes seront comparés par la suite.

D'après les résultats précédents, le foie et les reins sont les organes d'accumulation de Ag chez l'anguille. Aucune différence significative des concentrations en Ag dans le foie n'existe entre les anguilles de Saint Vivien et celles de Fronsac (Tab. 6.4). Dans un environnement aussi dynamique que l'estuaire de la Gironde, le foie est un meilleur intégrateur de l'exposition des anguilles à plus long terme que les branchies, qui fournissent au contraire un signal instantané.

***Tableau 6.4**. Comparaison statistique (W-M-W) des concentrations en Ag pour un même organe entre les anguilles de Fronsac (n=12) et celles de Saint Vivien (n=12). « ≠ » : différence significative (p<0,05) ; « ns » : non significatif.*

Saint Vivien / Fronsac	Muscle	Branchies	Estomac	Intestin	Reins	Foie
Muscle	ns					
Branchies		≠				
Estomac			≠			
Intestin				≠		
Reins					≠	
Foie						≠

Enfin, les concentrations en Ag dans les reins des anguilles de Saint Vivien sont supérieures à celles des anguilles de Fronsac (Tab. 6.4). Ceci est cohérent avec le résultat obtenu par Hogstrand et al. (2003) qui ont montré expérimentalement que les reins des anguilles exposées aux chlorocomplexes de Ag accumulent une quantité supérieure de Ag par rapport à ceux des anguilles exposées à l'ion Ag^+.

Par conséquent, l'étude de la variabilité spatiale de l'accumulation de Ag par les anguilles sauvages de l'estuaire de la Gironde reposera donc sur l'analyse des concentrations hépatiques et rénales en Ag, en tenant compte du temps d'exposition (i.e. taille/âge).

6.3.2. Effet des variables taille-poids-âge des anguilles sauvages sur l'accumulation de Ag

Lors de l'expérimentation de terrain, les anguilles étaient calibrées (~35 cm) afin de réduire la variabilité interindividuelle liée à leur histoire de vie, leur comportement dans la cage (dominance, cannibalisme) et leur physiologie. Lors des pêches des anguilles sauvages, le choix entre les individus était restreint, impliquant une gamme de variation de taille et de poids plus importante qui a en contrepartie permis d'augmenter la représentativité de cette étude (Fig. 6.17).

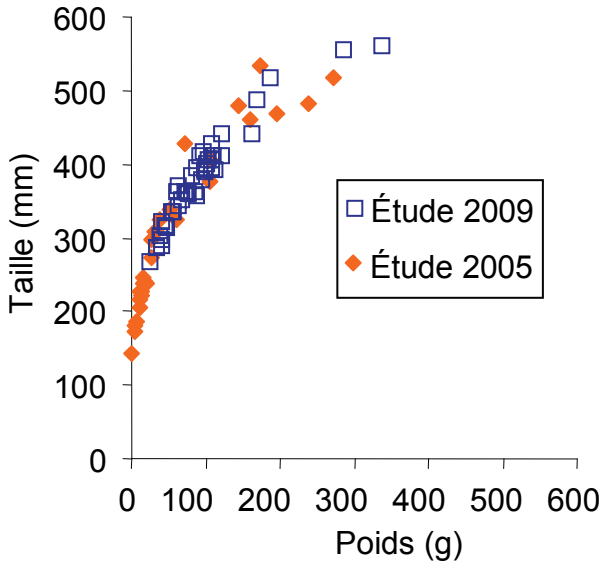

Figure 6.17. *Relation entre le poids (g) et la taille (mm) des anguilles capturées au cours de cette étude en 2009 (n=42) et au cours de la thèse de Fabien Pierron en 2005 (n=30).*

La taille de l'anguille (comme peut l'être son poids) est globalement un indicateur indirect de son âge (Bird et al., 2008 ; Meunier, 1994 ; Fig. 6.18). Dans l'estuaire de la Gironde, la taille de l'anguille européenne influence son régime alimentaire (Pasquaud, 2006). Les anguilles les plus petites consomment préférentiellement des amphipodes, des crevettes, ainsi que des mysidacés comme proies secondaires. Avec l'augmentation de leur taille, la fréquence de ces petites proies diminue face à des proies plus grandes, tels que les isopodes, les crabes et les poissons (Pasquaud, 2006).

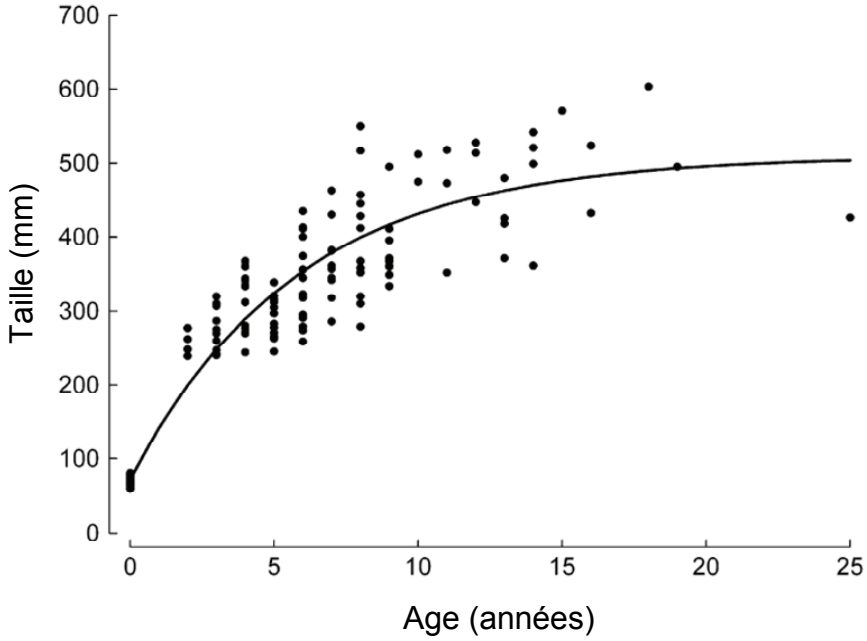

Figure 6.18. *Courbe de croissance de von Bertalanffy ajustée à la longueur de 91 anguilles pêchées dans l'estuaire de Severn (Angleterre) et âgées d'après le nombre d'annuli comptés sur les otolithes, d'après Bird et al. (2008).*

Cependant, la détermination de l'âge par la taille pour les anguilles d'une même rivière est aussi fonction du sexe. L'anguille présente un dimorphisme sexuel, les femelles atteignent des tailles supérieures à celles des mâles à âge équivalent (e.g. Meunier, 1994 ; Fig. 6.19). Cette différence est aussi fonction des conditions environnementales. Une anguille mâle de 40 cm sera plus âgée d'un an par rapport à une anguille femelle de même taille dans l'Elbe (Allemagne), alors qu'elle aura trois ans de plus dans la Valencia (Espagne ; Meunier, 1994 ; Fig. 6.18).

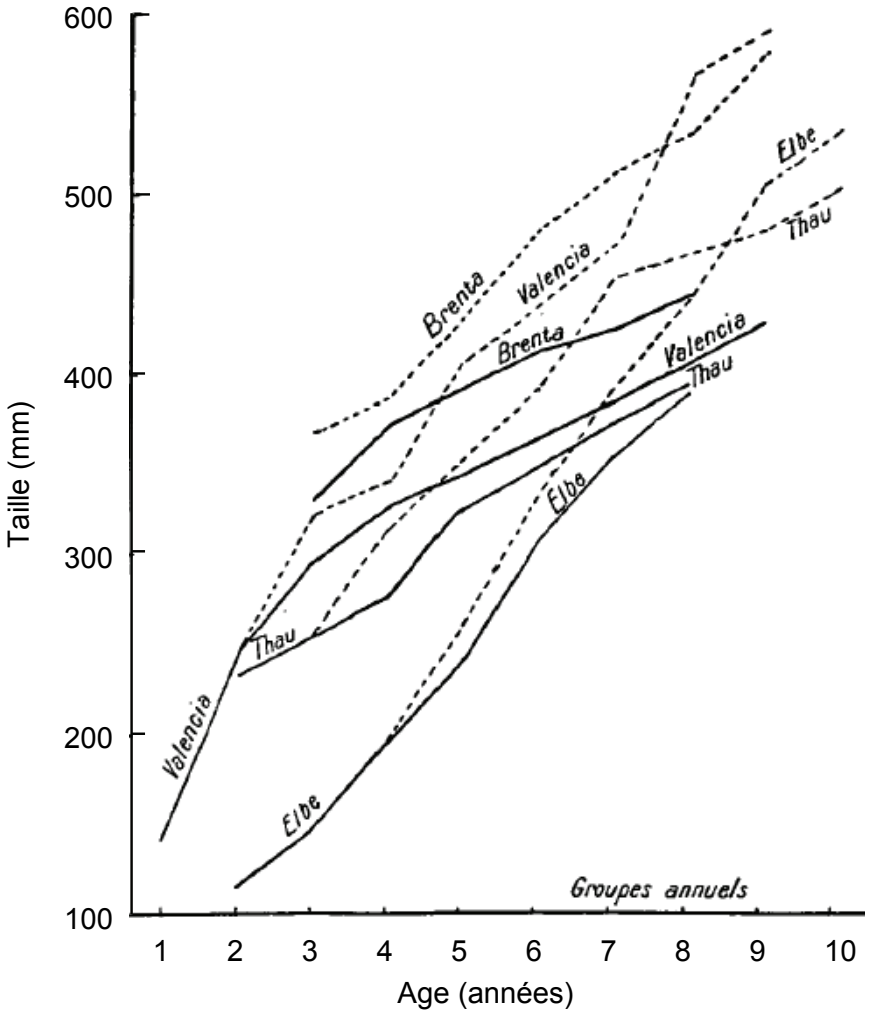

Figure 6.19. *Courbes de croissance de l'anguille européenne dans différents fleuves et lagunes d'Europe en fonction de l'âge (obtenu d'après le nombre d'annuli comptés sur les otolithes). En trait continu les animaux immatures et les mâles, en pointillé les femelles (d'après Bertin, 1942 ; Meunier, 1994).*

La comparaison de l'accumulation de Ag entre des anguilles de tailles (ou de poids) et de sexes différents risque d'induire un biais lié par exemple :

- au temps d'exposition (i.e. à l'âge),
- à des régimes trophiques différents (i.e. à la taille),
- à une dilution pondérale des concentrations métalliques (i.e. exposition puis croissance de l'individu).

Toutefois, nous remarquons que la contamination des anguilles dans le continuum fluvio-estuarien de la Gironde dépend avant tout de son exposition et aucune corrélation entre la taille, l'âge ou le sexe et les concentrations hépatiques ou rénales en Ag ne sont à attendre dans des sites où l'exposition à Ag est faible (Fig. 6.20).

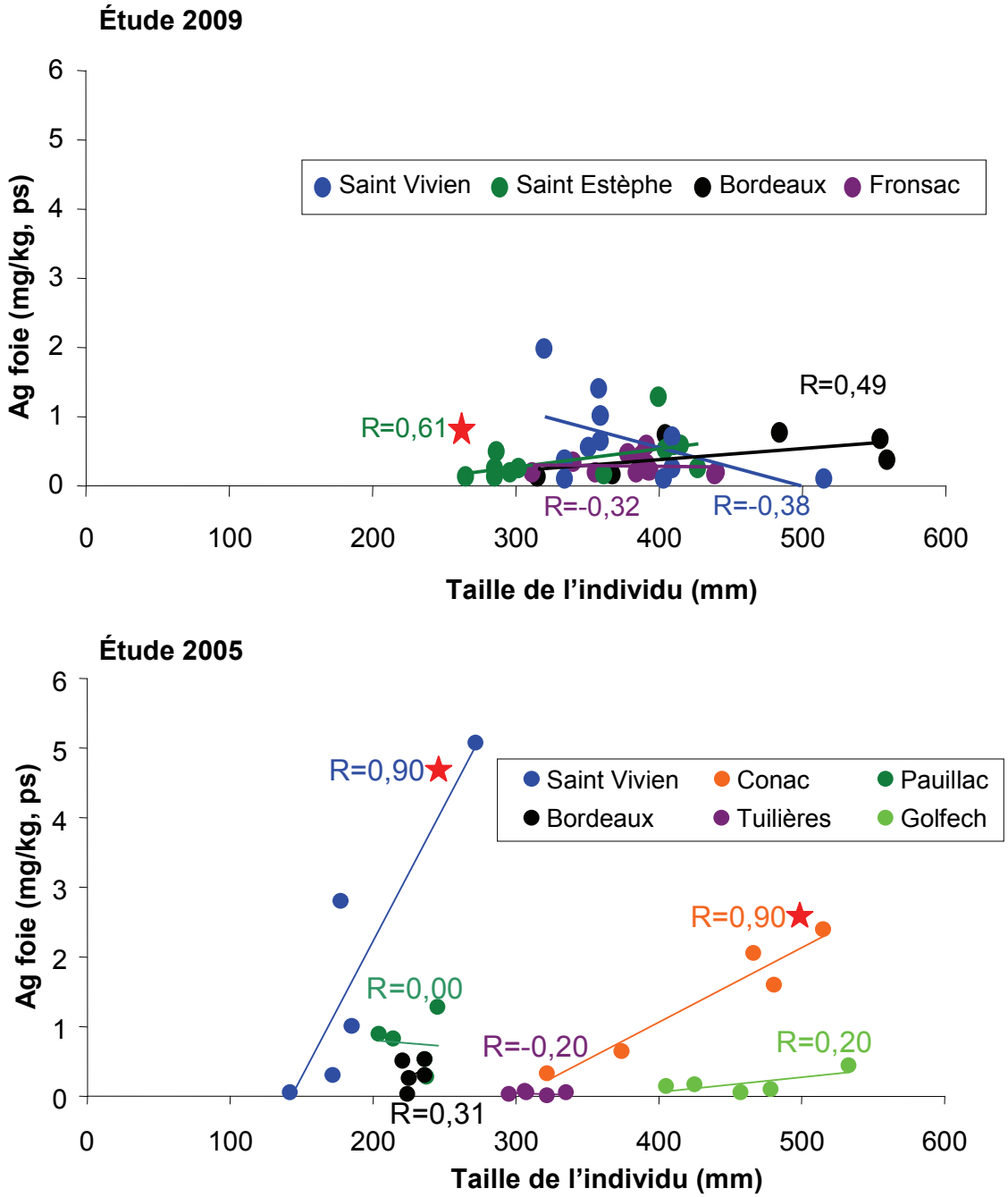

Figure 6.20. *Relation entre la taille et la concentration en Ag dans le foie des anguilles européennes échantillonnées lors de cette étude en 2009 et en 2005 lors de la thèse de Fabien Pierron. R : cœfficient de corrélation de rang de Spearman. Les corrélations statistiquement significatives (p<0,05) sont suivies d'une étoile rouge.*

L'étude de la relation entre la taille et la concentration en Ag dans le foie des anguilles des études 2009 et 2005 aux différents sites d'échantillonnage a montré des corrélations significatives (p<0,05) entre ces deux paramètres dans trois site de l'estuaire salé, à Saint Estèphe (2009), Saint Vivien (2005) et Conac (2005 ; Fig. 6.20). Bird et al. (2008) ont montré

qu'il existait une corrélation significative entre la taille (ou le poids) des anguilles d'un même site et leurs concentrations hépatiques en Cu, Cd, Zn et Pb, bien que ces variables n'expliquent que moins de 10% de l'accumulation des métaux dans le foie.
De plus, le sexe des anguilles de l'étude réalisée en 2009 n'a pas d'influence sur les concentrations en Ag pondérées par la taille, ni dans le foie (W-M-W ; U=15 ; n=8+4 ; p=0,93) ou les reins (W-M-W ; U=6 ; n=8+4 ; p=0,11) à Fronsac (n femelles=8 ; n mâles=4), ni dans le foie (W-M-W ; U=12 ; n=6+6 ; p=0,39) ou les reins (W-M-W ; U=14 ; n=6+6 ; p=0,59) à Saint Vivien (n femelles=6 ; n mâles=6). La comparaison n'a pas été possible aux autres sites de cette étude où l'ensemble des anguilles pêchées à Bordeaux (n=6) et à Saint Estèphe était des femelles (n=11 ; le sexe d'une anguille est resté indifférencié).

Par conséquent, la variabilité spatiale des concentrations hépatiques et rénales en Ag des anguilles de l'estuaire de la Gironde pour les études 2005 et 2009 (Fig. 6.21) a été déterminée suite à leur normalisation par la taille des individus (Fig. 6.22). **Les concentrations ainsi pondérées seront notées Ag***.

6.3.3. Variabilité spatiale de l'accumulation de Ag dans le foie et les reins des anguilles

Les anguilles échantillonnées en 2005 ont montré des concentrations hépatiques en Ag* différentes entre les sites de pêche (K-W ; H (5, N=30)=20 ; p<0,01). Les concentrations en Ag* des foies des anguilles provenant du site de Tuilières (i.e eau douce) étaient statistiquement inférieures aux concentrations hépatiques mesurées pour les anguilles de Pauillac, Conac et Saint Vivien (i.e. eau saumâtre ; p<0,05 ; Fig. 6.22 A).
Les échantillons de rein des stations de rivière Tuilières et Golfech étaient absents de la banque d'échantillons de 2005 qui a été exploitée de nouveau pour cette étude, ne nous permettant pas de confirmer le résultat obtenu pour les concentrations hépatiques.
Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les concentrations en Ag* dans les reins des anguilles des stations de Bordeaux, Pauillac, Conac et Saint Vivien (K-W ; H (3, N=19)=5,7 ; p=0,12 ; Fig. 6.22 B).

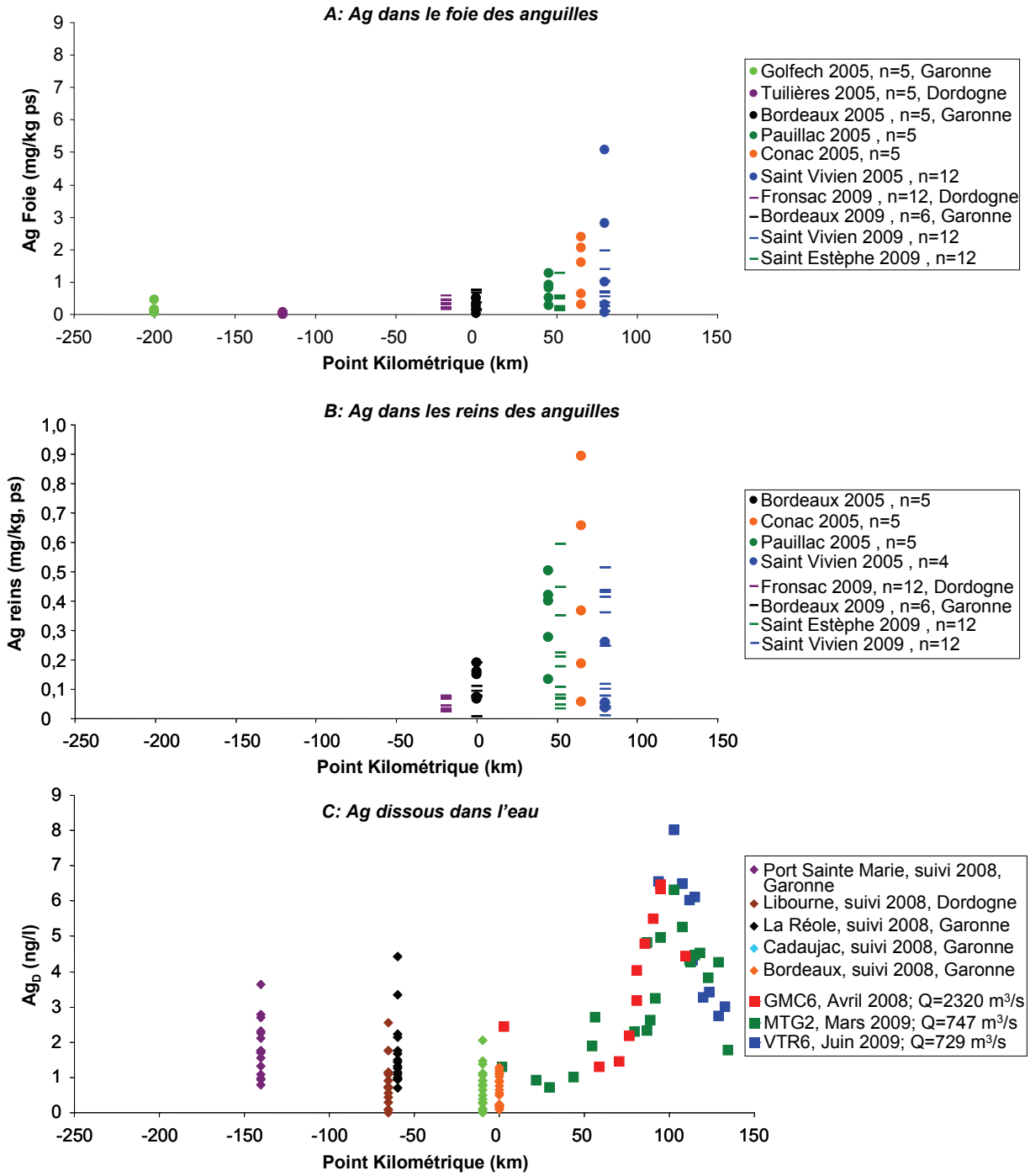

Figure 6.21. *Concentrations en Ag (mg/kg, ps) dans le foie (A) et dans les reins (B) des anguilles en fonction du Point Kilométrique de leur lieu de pêche dans l'estuaire de la Gironde (i.e. distance en km au pont de pierre à Bordeaux) lors des études de 2005 (thèse de Fabien Pierron) et de 2009. C : Concentrations en Ag dissous (Ag_D) en fonction du Point Kilométrique d'échantillonnage mesurées dans la Garonne (Bordeaux, Cadaujac, La Réole et Port Sainte Marie) et la Dordogne (Libourne) lors des suivis d'observation de l'année 2008 (n=16-18) et dans l'estuaire de la Gironde pour des débits contrastés lors des campagnes océanographiques (VTR6, MTG2 et GMC6).*

A l'inverse, l'analyse des anguilles collectées dans le cadre de cette étude en 2009 n'a pas permis de distinguer une différence significative entre les concentrations en Ag* dans le foie des anguilles des différents sites (K-W : H (3, N=42)=3,3 ; p=0,35 ; Fig. 6.22 A). De plus, les reins présentaient des concentrations en Ag* différentes entre les sites (K-W : H (3, N=42)=15,1 ; p<0,01), avec des valeurs significativement supérieures pour les anguilles de Saint Estèphe et de Saint Vivien (i.e. eau saumâtre) par rapport à celles de Fronsac (i.e. eau douce ; p<0,01 ; Fig. 6.22 B).

Aucune variabilité temporelle des concentrations en Ag* des anguilles n'a été recherchée entre les deux études en raison de la variabilité de l'âge des anguilles au sein de chaque étude. Pour cette même raison, nous avons regroupé les résultats des deux études afin de permettre la comparaison entre les concentrations en Ag* mesurées dans les anguilles d'eau douce (Tuilières, Golfech, Fronsac et Bordeaux ; n=33 pour les concentrations dans le foie et n=23 pour celles dans les reins) et celles des sites en eau saumâtre (Pauillac, Saint Estèphe, Conac, Saint Vivien ; n=39 pour les concentrations dans le foie et n=38 pour celles dans les reins).
Les facteurs de bioconcentration (concentration de l'élément dans l'organe/concentration de l'élément dans l'eau) ont été calculés pour l'étude réalisée en 2009, en amont, à Fronsac, à partir des concentrations moyennes en Ag_D à Libourne en 2008 (0,89±0,66 ng/l, n=18, Fig. 6.21C) et en aval, à Saint Vivien, à partir de la moyenne des concentrations en Ag_D mesurée lors des campagnes océanographiques GMC6 (Avril 2008 ; situation de crue) et MTG2 (Mars 2009 ; débit moyen) entre PK80 et PK86 (3,6±1,1 ng/l, n=4 ; Fig. 6.21C).

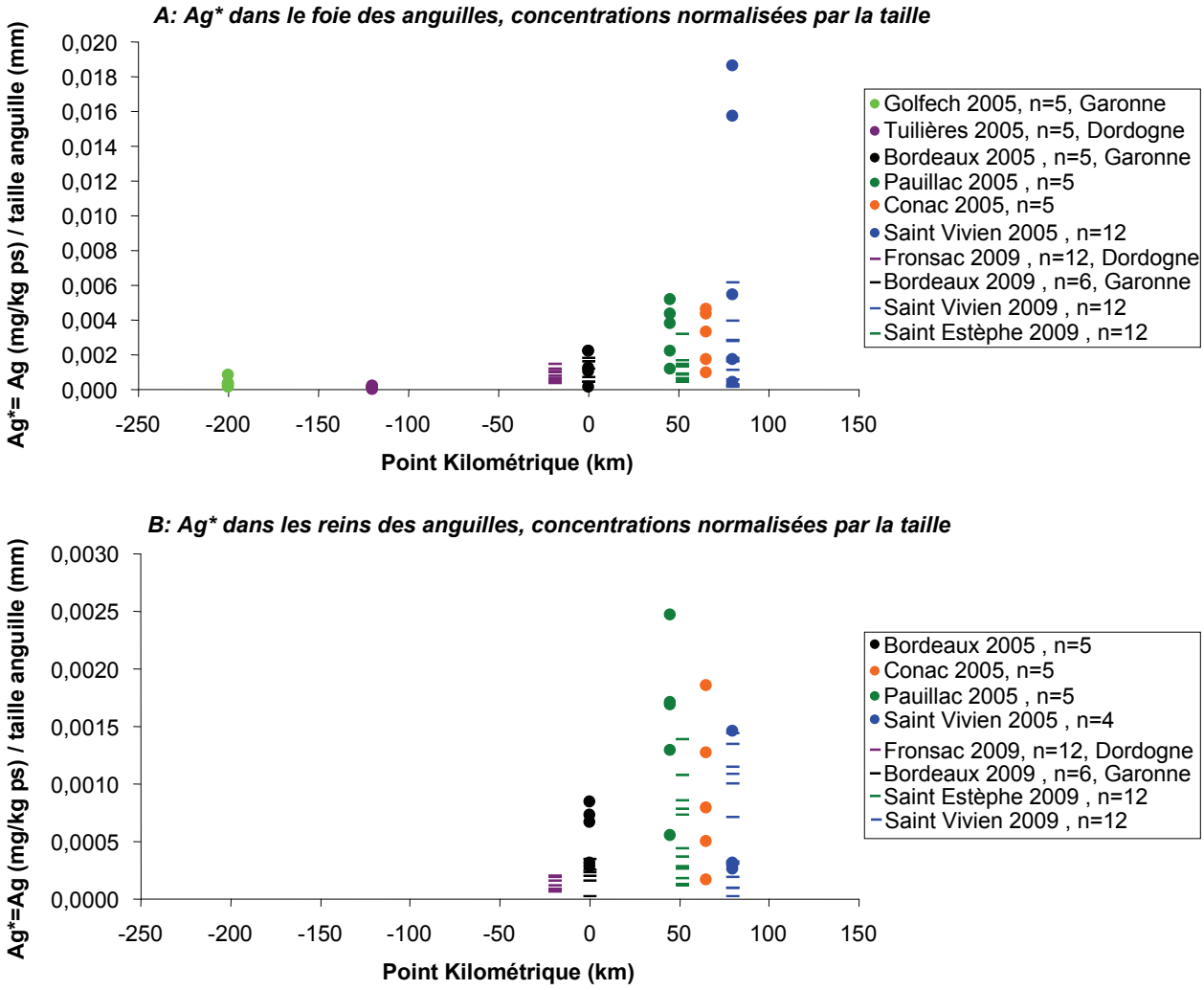

Figure 6.22. *Concentrations en Ag (mg/kg, ps) dans le foie (A) et dans les reins (B) normalisées par la taille des anguilles (Ag*) en fonction du point kilométrique de leur lieu de pêche dans l'estuaire de la Gironde (i.e. distance en km au pont de pierre à Bordeaux) lors des études de 2005 (thèse de Fabien Pierron) et de 2009.*

Les résultats indiquent que :

- Les concentrations en Ag* dans le foie et dans les reins des anguilles échantillonnées en eau saumâtre (i.e. depuis l'estuaire central à l'estuaire aval) étaient supérieures à celles mesurées dans ces organes pour les anguilles provenant des sites de rivière (W-M-W ; respectivement : U=287, n=39+33 ; $p<0,001$ et U=170, n=38+23 ; $p<0,001$; Fig. 6.22).

- De même, les concentrations maximales en Ag_D ont été mesurées dans l'estuaire aval (Fig. 6.21 C).

- Le facteur de bioconcentration de Ag dans le foie des anguilles de Fronsac (32±15 10^4 ; n=12) est statistiquement supérieur (W-M-W, U=36, n=12+12 ; p<0,05) à celui calculé pour le foie des anguilles de Saint Vivien (19±16 10^4 ; n=12). Ces résultats sont en accord avec les travaux expérimentaux qui ont mis en évidence que la forme libre Ag^+, espèce dominante en eau douce (e.g. Barriada et al., 2007), est la forme la plus biodisponible de Ag (e.g. Wood et al., 1994).

- Pourtant, aucune différence statistique n'existe entre les concentrations en Ag* pour ces deux sites (W-M-W, U=45, n=12+12 ; p=0,13).

Malgré un facteur de bioconcentration inférieur au site de Saint Vivien par rapport au site de Fronsac, les concentrations similaires en Ag* du foie entre ces sites suggèrent que la pression d'exposition des anguilles à Ag_D est supérieure dans l'estuaire aval. Dans cette partie de l'estuaire, les anguilles peuvent donc se contaminer en Ag :

1. par voie directe, Ag est dans ce cas redistribué depuis les branchies vers les organes internes comme le foie (Hogstrand et al., 2003),

2. par voie trophique, les proies prédatées, elles aussi exposées à Ag_D, sont plus contaminées en Ag que celles chassées en rivière. En effet, les crevettes pêchées à Saint Estèphe au PK52 (1,3±0,36 mg/kg, ps ; n=31 ; Fig. 6.7) présentaient des concentrations en Ag statistiquement supérieures (W-M-W, U=0, n=5+31 ; p<0,001) à celles des crevettes pêchées à Bègles (PK-5) en Avril 2010 (0,63±0,09 mg/kg, ps ; n=5). Ces résultats sont confirmés par ceux obtenus d'après la contamination expérimentale des crevettes estuariennes *Palaemonetes pugio* qui accumulent Ag_D proportionnellement à sa concentration dans l'eau saumâtre (Connell et al., 1991).

Les reins ne sont pas considérés dans la littérature comme un organe d'accumulation de Ag. D'ailleurs, le facteur de bioconcentration de Ag dans les reins est inférieur à celui calculé dans le foie des anguilles de Saint Vivien (W-M-W, U=34, n=12+12 ; p<0,05) et de Fronsac (W-M-W, U=0, n=12+12 ; p<0,001). Cependant, à l'inverse des résultats obtenus pour le foie, aucune différence significative (W-M-W, U=70, n=12+12 ; p=0,93) n'existe entre les facteurs de bioconcentration de Ag dans les reins des anguilles de l'estuaire aval pêchées à Saint

Vivien ($6,4\pm5,2\ 10^4$; n=12) et dans ceux des anguilles de rivière provenant de Fronsac ($4,9\pm2,4\ 10^4$; n=12).

Ce résultat semble dans un premier temps aller à l'encontre des conclusions de Hogstrand et al. (2003), qui ont testé expérimentalement l'effet de la chlorinité sur l'accumulation de Ag chez les anguilles européennes. Ces auteurs précisent que la spéciation de Ag (Ag^+ et AgCl) a un effet très réduit sur les niveaux de concentration de Ag dans les reins mais qui est pourtant statistiquement significatif. Leurs résultats indiquent une accumulation supérieure de Ag dans les reins lorsque les anguilles sont exposées à AgCl en comparaison de Ag^+. Cependant, Hogstrand et al. (2003) choisissent de discuter la distribution des données (i.e. faible variabilité et concentrations en Ag des reins des anguilles exposées à AgCl systématiquement supérieures) pour expliquer la significativité statistique du résultat, plutôt qu'un effet réel de la spéciation de Ag sur son accumulation dans les reins des anguilles.

Pour cet échantillonnage de 12 anguilles par site, les reins semblent donc présenter une vitesse d'accumulation de Ag similaire entre les sites de Saint Vivien (estuaire aval ; $AgCl_y^{(y-1)-}$ dominants) et de Fronsac (rivière ; Ag^+ dominant) pourtant mis en contraste par la pression d'exposition à Ag (directe et trophique) et la spéciation de Ag. **Nos résultats, obtenus pour la première fois pour des anguilles sauvages, appuient l'hypothèse que l'étude de l'accumulation de Ag dans les reins, à la différence de celle dans le foie, permettrait de déterminer les sites où l'exposition à Ag est supérieure.** En effet, les concentrations en Ag* dans les reins sont statistiquement supérieures à Saint Vivien par rapport à Fronsac (W-M-W, U=25, n=12+12 ; $p<0,01$), mettant en évidence l'exposition supérieure à Ag des anguilles dans l'estuaire aval telle que nous l'avons vérifiée, alors qu'aucune différence d'accumulation de Ag entre ces deux sites n'avait pu être déterminée dans le foie.

D'après les résultats précédant, nous avons montré que :

- ✓ **bien que Ag^+ soit considérée dans la littérature comme l'espèce la plus biodisponible, l'accumulation de Ag dans le foie et les reins des anguilles correspond à la pression d'exposition des poissons,**

- ✓ **le foie est l'organe d'accumulation de Ag chez l'anguille européenne,**

- ✓ **pourtant, les reins, qui présentent un même facteur de bioconcentration de Ag et des concentrations en Ag* différentes entre l'estuaire amont et aval, sont un organe plus à même de déterminer la pression d'exposition des anguilles à Ag entre les sites.**

6.4. Bioaccumulation de Ag dans les crevettes *Palaemon longirostris* et *Palaemon macrodactylus*

6.4.1. Influence du sexe sur l'accumulation de Ag

La comparaison de 5 crevettes mâles et 5 crevettes femelles de l'espèce autochtone *Palaemon longirostris*, de taille similaire et pêchées en même temps (Fig. 6.23), indique des concentrations en Ag supérieures dans le muscle des crevettes mâles (1,1±0,47 mg/kg, ps) par rapport aux femelles (0,64±0,17 mg/kg, ps ; W-M-W ; U=2 ; n=5+5 ; $p<0,05$). Aucune différence significative des concentrations en Ag n'a pu être montrée entre l'hépatopancréas des crevettes mâles (7,7±6,1 mg/kg, ps) et des crevettes femelles (4,4±1,4 mg/kg, ps ; W-M-W ; U=8 ; n=5+5 ; $p=0,42$). L'hépatopancréas présente des concentrations en Ag supérieures à celles du muscle à la fois chez les femelles (W-M-W ; U=0 ; n=5+5 ; $p<0,01$) et chez les mâles (W-M-W ; U=1 ; n=5+5 ; $p<0,05$) de l'espèce *P. longirostris*.

La crevette tigrée pêchée dans la Baie d'Iskenderun (Turquie) semble présenter des concentrations en Ag supérieures dans l'hépatopancréas des crevettes mâles (e.g. 9,8±2,4 mg/kg, poids frais) par rapport aux femelles (e.g. 5,9±1,3 mg/kg, poids frais), alors que les valeurs moyennes dans le muscle sont très similaires entre les crevettes mâles (e.g. 2,8±0,3 mg/kg, poids frais) et femelles (e.g. 2,1±0,7 mg/kg, poids frais ; Yilmaz et Yilmaz, 2007). Toutefois les auteurs ne testent pas statistiquement les différences d'accumulation entre les sexes.

Le sexe des crevettes ne semble globalement pas avoir d'influence sur les concentrations en Ag. Bien que la ségrégation spatiale liée au sexe peut avoir un effet important sur l'exposition des organismes (i.e. les mâles de l'espèce *P. longirostris* occupent préférentiellement les eaux plus salées de la zone mésohaline alors que les femelles occupent les eaux oligohalines et douces ; Béguer, 2009), aucun résultat clair n'apparaît ici pour ce nombre limité de comparaisons.

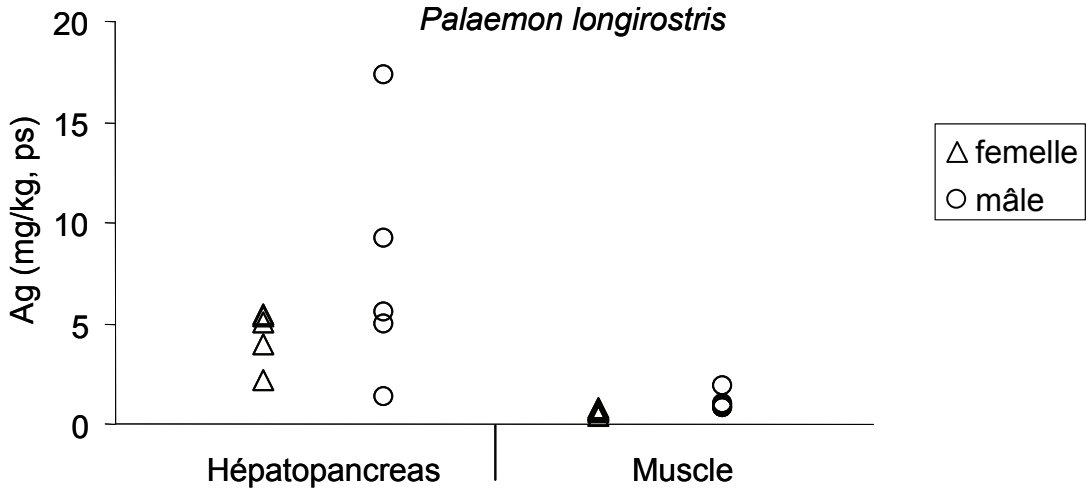

Figure 6.23. *Comparaison des concentrations en Ag dans l'hépatopancréas et le muscle selon le sexe des crevettes de l'espèce P. longirostris.*

6.4.2. Accumulation de Ag chez les crevettes *P. longirostris* et *P. macrodactylus*

Les concentrations en Ag mesurées sur la période mai 2006-juin 2007 chez les crevettes femelles de l'espèce native *P. longirostris* varient de 0,012 à 29 mg/kg, ps (6,1±5,6 mg/kg, ps) dans l'hépatopancréas et de 0,20 à 3,3 mg/kg, ps (1,0±0,70 mg/kg, ps) dans le muscle (Fig. 6.24 A). Chez l'espèce invasive *P. macrodactylus*, ces concentrations varient de 1,7 à 20 mg/kg, ps (8,9±6,4 mg/kg, ps) dans l'hépatopancréas et de 0,084 à 4,9 mg/kg, ps (1,8±1,2 mg/kg, ps) dans le muscle (Fig. 6.24 B). Les concentrations en Ag sont statistiquement plus élevées dans l'hépatopancréas que dans le muscle pour l'espèce *P. longirostris* (W-M-W ; U=101 ; n=44+45 ; p<0,001) et l'espèce *P. macrodactylus* (W-M-W ; U=40 ; n=22+24 ; p<0,001). Pour ces deux espèces, comme le foie pour l'anguille, l'hépatopancréas est l'organe d'accumulation de Ag.

Peu de données existent dans la littérature concernant l'accumulation de Ag dans des crevettes sauvages. En comparaison, les concentrations mesurées dans les crevettes de l'estuaire de la Gironde sont similaires à celles mesurées chez les crevettes tigrées de Turquie (Yilmaz et Yilmaz, 2007 ; cf 6.3.1) et semblent supérieures aux concentrations moyennes mesurées dans le muscle (0,16 à 0,46 mg/kg, ps) et dans l'hépatopancréas (1,4 à 2,6 mg/kg, ps) de crevettes blanches (*Penaeus setiferus*) pêchées dans une zone touristique du Golf de Mexico où est aussi exploité le pétrole (Vazquez et al., 2001).

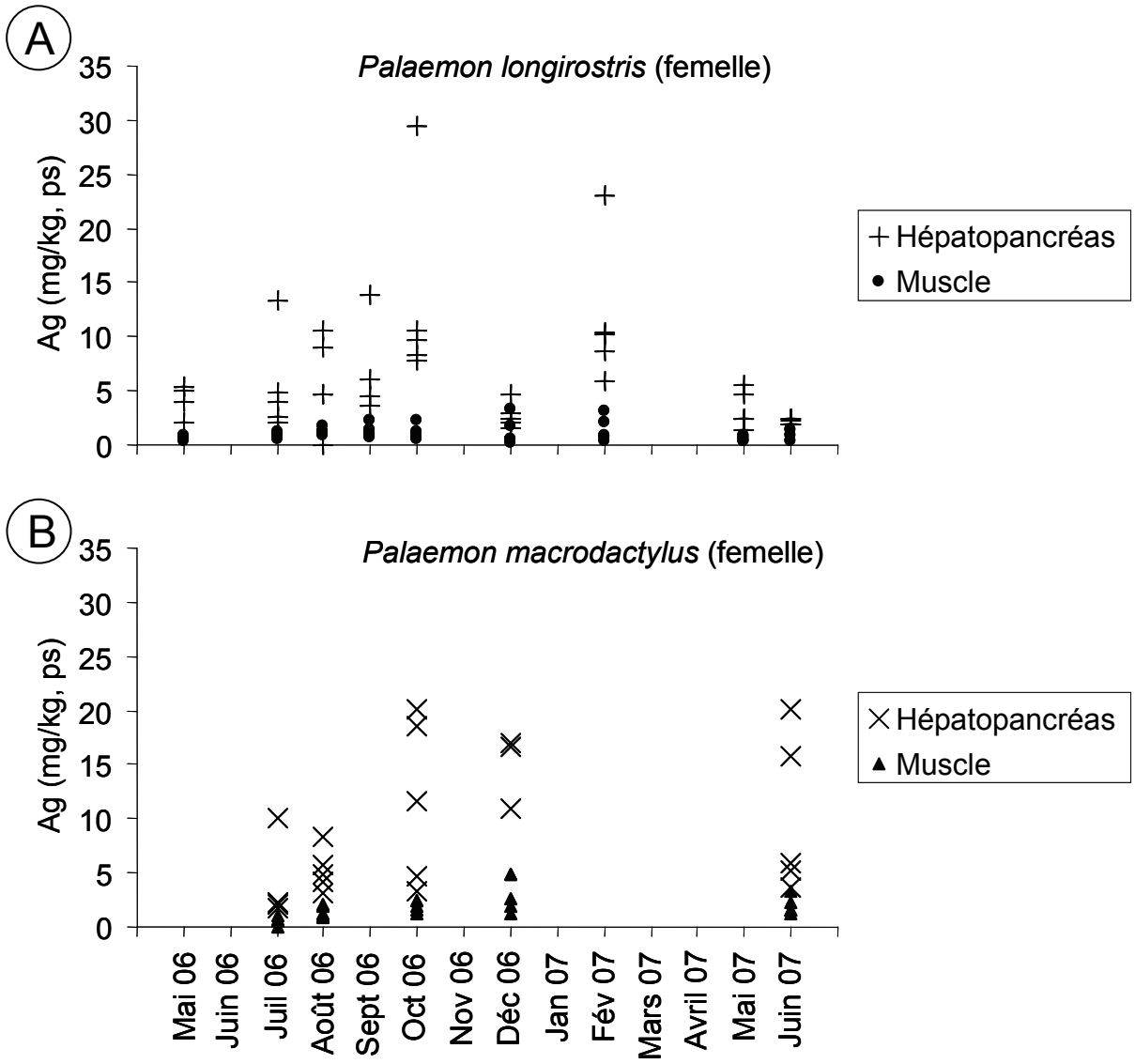

Figure 6.24. *Concentrations en Ag dans l'hépatopancréas et le muscle des crevettes femelles Palaemon longirostris (A, n=45) et Palaemon macrodactylus (B, n=25) pêchées en 2006-2007.*

Parmi les deux espèces de crevettes, c'est l'espèce *P. macrodactylus* qui présente les plus fortes concentrations en Ag dans l'hépatopancréas ($U=173$; $n=25+22$; $p<0,05$; Fig. 6.25 A) et dans le muscle ($U=117$; $n=25+24$; $p<0,001$; Fig. 6.25 B) pour l'ensemble des dates ($n=5$) où ces espèces ont été comparées.

L'aire de répartition de l'espèce exotique *P. macrodactylus* n'est pas clairement définie car sa présence dans l'estuaire de la Gironde n'a été que récemment découverte (Béguer et al., 2007). Cependant, tout comme les crevettes de l'espèce autochtone *P. longirostris*, elles supportent une large gamme de salinités (Gonzalez-Ortegon et al., 2006) et effectuent des

migrations saisonnières amont-aval liées à l'hydrologie et à leur cycle de reproduction. Toutefois, l'analyse des pêches professionnelles de 2005 et 2007 réalisée par Béguer (2009), indique que « la présence de l'espèce exotique *P. macrodactylus* est négligeable (sauf très en aval, au niveau de Port de Goulée) ». Le Port de Goulée se situe à ~5km du site de pêche des anguilles sauvages de Saint Vivien où les anguilles présentaient des concentrations en Ag dans les reins supérieures à celles de rivière. De plus, cette zone de l'estuaire est celle où ont été mesurées les concentrations en Ag_D maximales (Fig. 6.21C). Or, l'accumulation expérimentale de Ag en eau saumâtre chez les crevettes *Palaemonetes pugio* collectées en Baie de Chesapeake est proportionnelle aux concentrations en Ag_D (Connell et al., 1991). De plus, aucune contamination par voie trophique n'a été mise en évidence par ces auteurs pendant deux semaines d'exposition à des algues contaminées (Connell et al., 1991). Ainsi, les concentrations en Ag plus importantes dans le muscle et l'hépatopancréas de *P. macrodactylus*, semble indiquer que cette espèce exotique a une aire de répartition plus marine que l'espèce native même s'il existe un recoupement de leurs zones d'occupation respectives, ce que défend très récemment Béguer et al. (soumis à Aquatic Invasions).

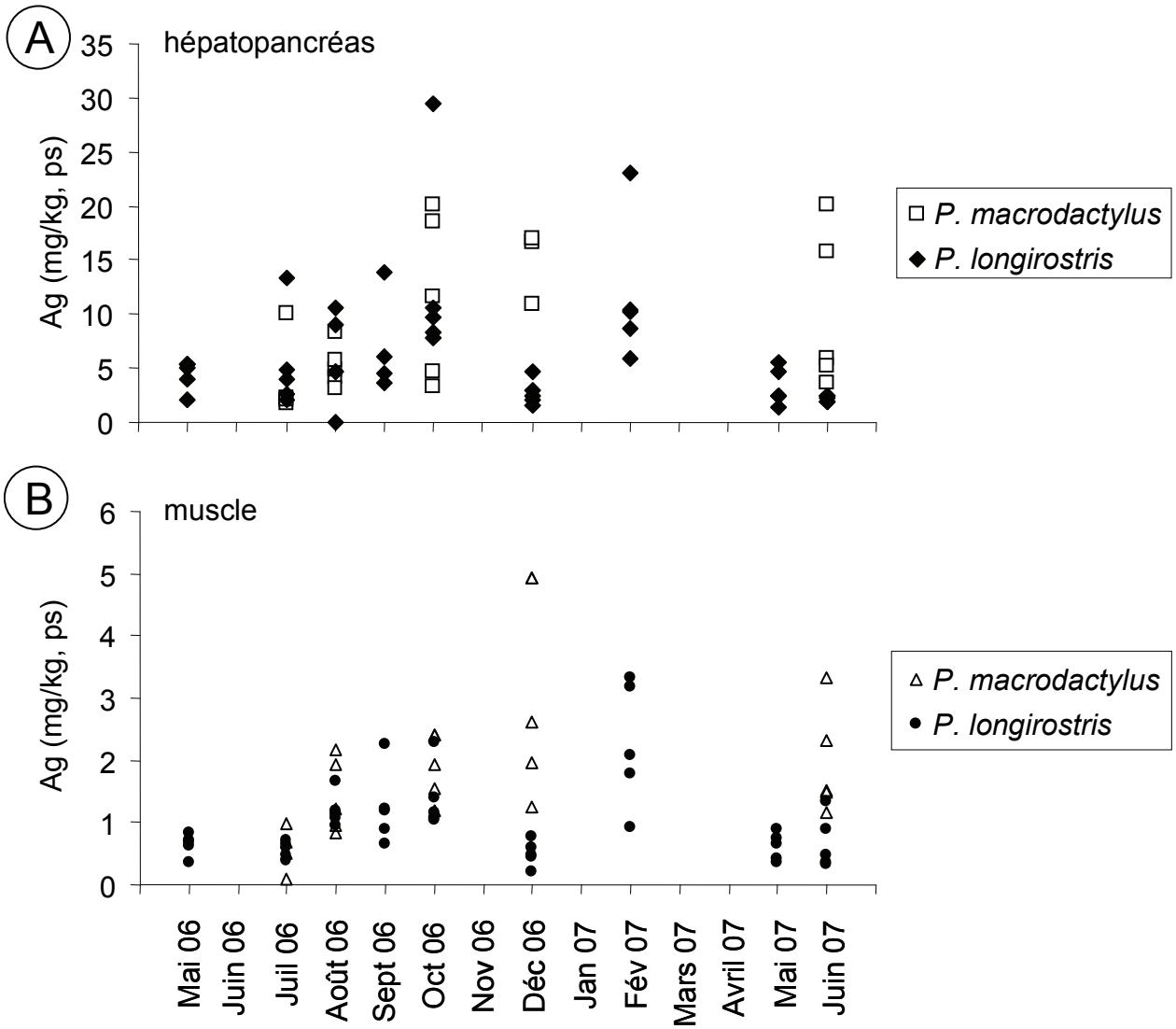

Figure 6.25. *Comparaison des concentrations en Ag dans l'hépatopancréas (A) et dans le muscle (B) des crevettes femelles des espèces Palaemon longirostris et Palaemon macrodactylus pêchées en 2006-2007.*

Les facteurs de bioconcentration dans l'hépatopancréas des crevettes des deux espèces ont été calculés à partir de la moyenne des concentrations en Ag_D mesurées lors des missions GMC6 et MTG2 (avril 2008 et mars 2009) autour du lieu de pêche (Blaye ; PK50) entre les PK44 et PK57 qui était de 1,9±0,8 ng Ag/l (n=3). Pour l'hépatopancréas de l'espèce *P. longirostris*, ce facteur est de 3,0±2,3 10^6 (n=42) pour les femelles et 4,9±3,0 10^6 pour les mâles (n=5). Pour les femelles de l'espèce *P. macrodactylus*, le facteur de bioconcentration dans l'hépatopancréas est de ~4,7±3,6 10^6 pour les femelles (n=22). La bioconcentration dans l'hépatopancréas des femelles *P. macrodactylus* est statistiquement supérieure à celle calculée pour les crevettes femelles de l'espèce *P. longirostris* (W-M-W ; U=317 ; n=22+42 ; $p<0,05$).

En comparaison, les concentrations moyennes en Ag dans le foie (0,39±0,33 mg/kg, ps) des anguilles de Saint Estèphe (n=12) étaient inférieures d'un ordre de grandeur à celles mesurées dans l'hépatopancréas des crevettes femelles *P. longirostris* (5,9±4,5 mg/kg, ps) et *P. macrodactylus* (8,9±6,4 mg/kg, ps). Par conséquent, le facteur de bioconcentration chez les crevettes est d'un ordre de grandeur supérieur à celui calculé pour les anguilles de Saint Estèphe (i.e. 21±17 10^4). Ce résultat indique l'absence de bioamplification de Ag entre les crevettes et les anguilles.

6.5. Conclusion

L'écologie de l'anguille (e.g. temps de résidence dans l'estuaire, nécessité d'accumuler des lipides et vie benthique), sa capacité d'accumulation et sa « tolérance » aux polluants organiques et inorganiques (e.g. Belpaire et Goemans, 2007) en font une espèce recommandée pour la biosurveillance du milieu dans le cadre de la Directive Cadre Européenne (CEC, 2000 ; STECF, 2006 ; WFD-CIS, 2003 ; WG Eel, 2006). Dans cette perspective, l'expérimentation en cage (ou « caging ») *in situ*, malgré l'abandon forcé du site de Libourne (vols répétés), a été un succès technique (taux de survie des anguilles 70-82%) et humain (identification des anguilles, mise en cage, entretiens des cages, alimentation des anguilles et dissections coordonnées) due à l'effort et au travail collectif des différents partenaires du projet et à la collaboration des pêcheurs professionnels. Cette expérimentation visait à étudier les voies d'exposition des anguilles aux différents polluants organiques et inorganiques et leur impact sur l'expression génétique (Renault, en prep.). Pour Ag plus particulièrement, cette étude a mis en évidence, pour une durée d'exposition des anguilles de 3 mois :

- ✓ **l'impact de la voie directe** sur la contamination des anguilles avec la dépuration des branchies en Ag pour les anguilles du site le plus amont (Cadaujac, rivière) par rapport aux anguilles témoins et au site le plus aval (Pauillac, estuaire central) où les concentrations en Ag_D sont supérieures (Pauillac : 0,6 à 6 ng/l ; Cadaujac : <0,6 ng/l).

- ✓ **l'impact de la contamination trophique** avec des concentrations de Ag dans l'estomac des anguilles nourries aux crevettes de Gironde supérieures aux niveaux des anguilles témoins aux sites de Cadaujac, de Bordeaux et de Pauillac.

Pour un niveau d'exposition réel d'une durée de 3 mois dans l'estuaire de la Gironde, les concentrations en Ag dans le foie des anguilles très supérieures aux autres organes (dix fois supérieures à celles des muscles, reins, branchies et intestins et deux fois supérieures à celles de l'estomac) ne sont pas suffisamment modifiées pour identifier une différence d'exposition entre les sites.
Le recours à la technique de mise en cage d'anguilles pour la biosurveillance d'un milieu naturel (i.e. dans des conditions d'exposition réelles correspondant aux concentrations environnementales en Ag) a l'avantage de permettre le contrôle de la contamination trophique puisque aucune différence de concentrations en Ag n'existe entre les estomacs des anguilles témoins et ceux des anguilles nourries aux crevettes de Certes (i.e. les anguilles ne se sont pas contaminées avec des proies girondines). En outre, le « caging » permet de limiter la zone d'exposition des anguilles (i.e. supprime le biais potentiellement induit par la migration lors des pêches d'anguilles sauvages).

D'autre part, les échantillonnages d'anguilles réalisés tout au long du continuum fluvio-estuarien de la Gironde lors de cette étude (2009) et d'une étude précédente (2005, SMIDDEST, réalisée dans le cadre de la thèse de Fabien Pierron) ont permis de connaître **pour la première fois** les niveaux de concentrations en Ag dans les différents organes de l'anguille (à notre connaissance seule une publication traite de Ag dans le foie d'anguille mais sans donner de valeurs exploitables ; Langston et al., 2002). Nos résultats montrent que :

- ✓ globalement, les **concentrations en Ag dans le foie et dans les reins** des anguilles échantillonnées en eau saumâtre, **depuis l'estuaire central à l'estuaire aval**, **sont supérieures** à celles mesurées dans ces organes pour les anguilles provenant des **sites de rivière**, en **accord avec les concentrations ambiantes en Ag_D**,

- ✓ Pourtant, un **facteur de bioconcentration de Ag** (FBC = concentration de l'élément dans l'organe/concentration de l'élément dans l'eau) **supérieur en rivière** (Fronsac ; $32\pm15\ 10^4$) par rapport à celui calculé pour l'estuaire aval (Saint Vivien ; $19\pm16\ 10^4$) **pour le foie** et **sans différence significative pour les reins** (Fronsac : $4,9\pm2,4\ 10^4$; Saint Vivien : $6,4\pm5,2\ 10^4$) a été calculé.

De plus, même s'il **n'existe pas de bioamplification de Ag** entre les crevettes (proies) et les anguilles (prédateurs), le FBC de Ag dans l'hépatopancréas des crevettes (~10 fois supérieur à

celui du foie des anguilles) laisse envisager **une contamination trophique des anguilles potentiellement plus importante dans l'estuaire salin**.

Par conséquent :

1. bien que Ag^+ soit l'espèce la plus biodisponible (e.g. Wood et al., 1994) l'accumulation de Ag dans le foie et les reins des anguilles correspond à la pression d'exposition des poissons (i.e. concentrations en Ag_D). Le niveau d'exposition (i.e. concentrations en Ag_D) semble donc être plus important que la spéciation dominante dans le gradient de salinité pour expliquer l'accumulation de Ag dans le foie et les reins des anguilles.

2. le foie et les reins sont les organes principaux d'accumulation de Ag chez les anguilles et l'hépatopancréas celui des crevettes.

3. pourtant, les reins, qui ont à la différence du foie un même facteur de bioconcentration de Ag et des concentrations en Ag différentes entre l'estuaire amont et aval, sont un organe plus à même de permettre la comparaison des pressions d'exposition à Ag entre les sites. Ceci confirme, pour le milieu naturel, l'accumulation supérieure de Ag par les reins des anguilles exposées aux chlorocomplexes en comparaison des anguilles exposées à l'ion Ag^+ lors d'expérimentations en laboratoire (Hogstrand et al., 2003).

Chapitre 7

Bilan des sources, du transfert et de la bioaccumulation de Ag dans le système fluvio-estuarien girondin

7.1. Sources de Ag

7.1.1. Source naturelle : l'érosion

L'estuaire de la Gironde draine les sols naturellement riches en métaux des Pyrénées et du Massif Central (e.g. Pb, Zn, Cu, Sn, W, As, Ag, Au, Sb, Mo, Ba, Fe, Mn, U, F, S ; BRGM, 1978, 1980, 1983, 1985 ; Bril et al., 1994 ; Bril et Floc'h, 2001). L'érosion de ces formations géologiques contribue aux concentrations en éléments traces des sédiments et des particules en suspension arrivant à l'estuaire (Schäfer et Blanc, 2002).

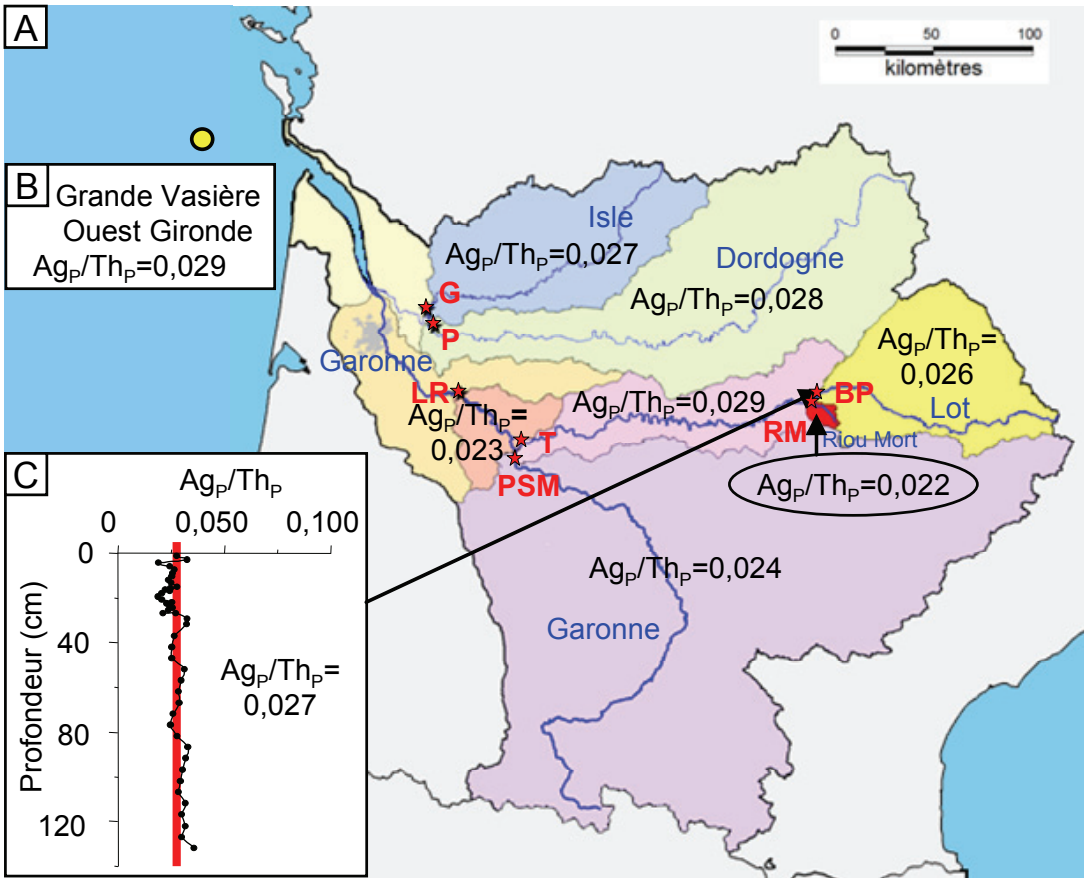

Figure 7.1. *A : Moyenne des rapports Ag$_P$/Th$_P$ minimaux calculés dans les particules en suspension pour les sites de prélèvement (étoile rouge) suivants : Guîtres (G ; 2000-2002), Pessac (P ; 2000-2002), La Réole (LR ; 1999-2009), Temple (T ; 2000-2009), Port Sainte Marie (PSM ; 2000-2009), Riou-Mort (RM ; 1999-2010) et Boisse Penchot (BM ; 2004-2009). B : rapport Ag$_P$/Th$_P$ dans la Grande Vasière Ouest Gironde. C : moyenne du rapport Ag$_P$/Th$_P$ dans le profil sédimentaire de la retenue de Marcenac.*

Nous proposons un bruit de fond géochimique de Ag_P affranchi de l'effet de la granulométrie, calculé d'après la moyenne des rapports minimaux Ag_P/Th_P i) dans **les particules en suspension** des différents sous bassins versants de l'estuaire et ii) dans **les sédiments d'une retenue de barrage amont** et dans **la Grande Vasière Ouest girondine** (avant 1940 ; Fig. 7.1).

D'après le bruit de fond géochimique régional estimé comme $Ag_P/Th_P=0,026$, les apports en Ag_P d'origine naturelle (i.e. géogènes) transportés par la Garonne varient de 0,057 à 0,817 t/an sur la période 1999-2009. Ils comprennent sans distinction l'érosion naturelle (facteurs hydrologique et éolien) et l'érosion induite par les travaux, l'entretien ou la gestion du système fluvial. Néanmoins, la contribution de cette part naturelle (lié à l'érosion) au flux particulaire totale en Ag est maximum pour les années humides (e.g. 64% en 2008 à La Réole) et minimum les années sèches (e.g. 19% en 2005 à La Réole), indiquant la forte dépendance de la contribution des flux en Ag_P d'origine non-anthropique à l'hydrologie (i.e. érosion naturelle).

7.1.2. Source historique : l'activité minière et industrielle sur le bassin de Decazeville

L'analyse des carottes effectuées sur le Lot en amont (Marcenac) et en aval (Cajarc) de la source à l'origine de la pollution polymétallique historique subie par l'estuaire de la Gironde (e.g. Cd, Zn, Cu, Pb, Hg ; Audry, 2004c ; Castelle et al., 2007) a révélé que les activités minières et industrielles sur le bassin de Decazeville ont été une source majeure en Ag pour le bassin versant pendant les décennies précédant 1986. L'arrêt des activités cette année là, suivi d'efforts de remédiation, a limité les émissions en Ag dans l'environnement. Les concentrations sédimentaires en Ag ont diminué progressivement suite à la pollution accidentelle de 1986 (Audry et al., 2004c) de 6,7 mg/kg à la concentration minimale de 0,4 mg/kg en 1998.

En moyenne, près de 60% de Ag dans les sédiments contaminés de Cajarc sont potentiellement biodisponibles et liés à une phase minérale et réactive (i.e argiles). L'évolution des procédés de traitement des résidus et l'ajout d'une étape d'électrolyse en 1977 a permis d'extraire une partie de Ag contenu dans les résidus et ainsi de réduire de moitié (de 72±8% à 38±8%) la fraction en Ag potentiellement biodisponible des sédiments. Cependant, ceci a été plus ou moins compensé par i) l'activité maximale de la production

industrielle de Zn à partir de cette date et ii) par la succession de plusieurs accidents, aboutissant finalement au maintien de concentrations élevées en Ag_P dans les sédiments.

Malgré les efforts de remédiation, le lessivage et l'altération mécanique continus des terrils sont à l'origine d'apports en Ag provenant du bassin de Decazeville. Le Riou-Mort, qui draine ce bassin, présente les concentrations en Ag_P (MES) et en Ag_D beaucoup plus élevées que celles mesurées dans les différents bassins versants régionaux. Les maximums atteints sur la période 1999-2009 sont de 261 mg/kg pour Ag_P et 1260 ng/l pour Ag_D, soit respectivement 20 et 200 fois supérieurs aux maximums des concentrations pour l'ensemble des rivières étudiées (Garonne, Lot, Dordogne et Isle) où les concentrations varient entre 0,13 et 14 mg/kg pour Ag_P et entre <0,5 ng/l et 5,7 ng/l pour Ag_D.

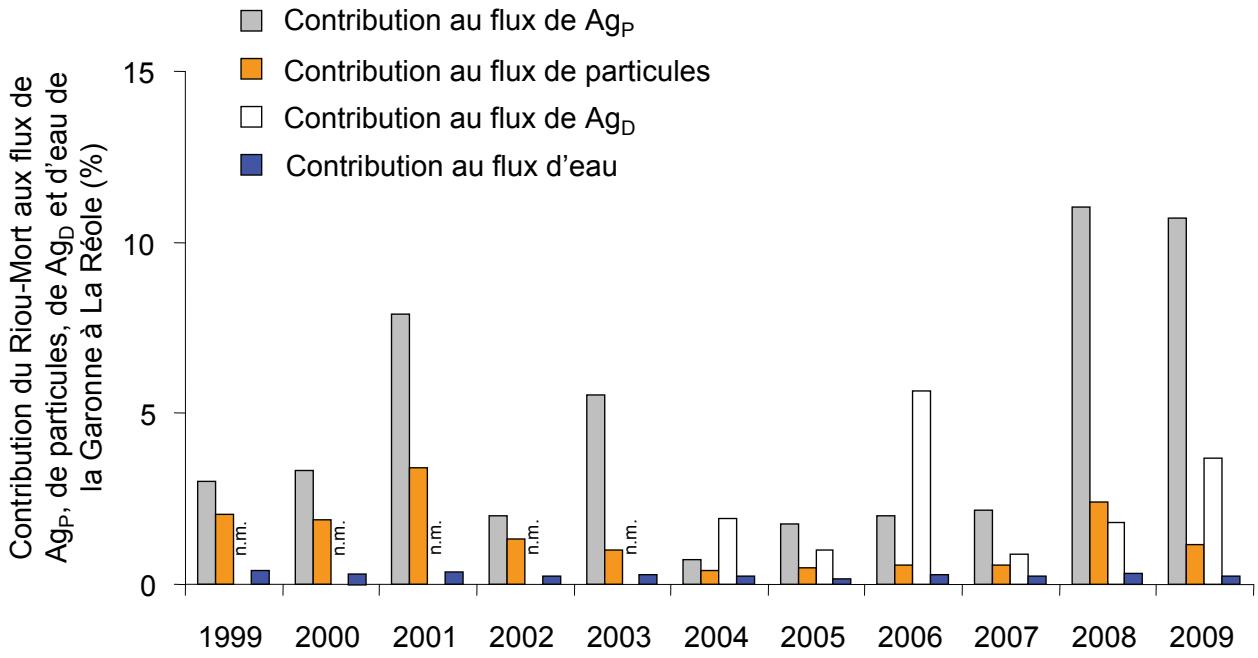

Figure 7.2. *Contribution des flux de Ag particulaire (Ag_P), de particules, de Ag_D et d'eau du Riou-Mort aux flux apportés par la Garonne à l'estuaire (mesurés à la Réole) sur la période 1999-2009. « n.m. » : non mesuré.*

En conséquence, la concentration de surface en Ag de la carotte Cajarc (0,7 mg/kg) est supérieure à celle mesurée en amont à Marcenac (0,4 mg/kg). Malgré cela, la contribution du Riou -Mort aux flux de Ag entrant dans l'estuaire par la Garonne reste <11% pour les flux de Ag_P (Fig. 7.2) et <6% pour Ag_D, minimisant l'impact des exportations actuelles du bassin de Decazeville sur l'ensemble du système Lot–Garonne–Gironde. Toutefois, l'augmentation des contributions du Riou-Mort au flux de Ag_P de la Garonne ces deux dernières années (2008 et

2009), proportionnellement distinct de l'évolution de la contribution du flux de particules, justifie la poursuite du suivi d'observation sur le bassin versant Lot–Garonne.

7.1.3. Sources contemporaines liées aux rejets anthropiques

7.1.3.a. Les rejets urbains

Les rejets en Ag des stations de traitement des eaux des villes de Toulouse et de Bordeaux (~2,1 millions d'habitants) ont été estimés entre 42 et 57 kg/an à partir des rejets des stations de traitement de la Baie de San Francisco (20-27 mg Ag/personne en 2007 ; P. Bobel, Palo Alto Environmental Protection Agency dans Luoma, 2008). Peu de données concernant les rejets des stations de traitement des eaux sont disponibles dans la littérature scientifique. Pour l'estuaire de la Gironde, cette quantité représente de 0,75 à 7 fois le flux annuel en Ag_D transporté par la Garonne (43 à 57 kg/an), soit de 2 à 17% du flux total en Ag de cette rivière.

7.1.3.b. L'agriculture

La moitié de la surface du bassin de la Garonne, de la Dordogne et de l'Isle est exploitée pour l'agriculture céréalière, maraîchère et viticole (Veyssy, 1998). Afin de protéger leurs récoltes, une partie des agriculteurs luttent contre la grêle par l'ensemencement des nuages. Un réseau national (ANELFA) regroupe une partie des utilisateurs de générateurs dispersant des particules d'iodure d'argent. Le fonctionnement des 210 générateurs recensés sur le bassin versant de l'estuaire de la Gironde lors des 12 à 25 jours d'alerte à la grêle annuelle correspond à un rejet dans l'atmosphère de 100 à 210 kg de Ag. Dans l'hypothèse où 30% des émissions atteignent le système aquatique (30 à 60 kg de Ag/an), la contribution de cette pratique est équivalente aux rejets des stations de traitement des eaux de Toulouse et Bordeaux et par conséquent doit être prise en compte dans le bilan des flux de Ag.

7.1.3.c. Les flux spécifiques particulaires d'origine anthropique

L'intégration de la surface et de la population du bassin versant de la Garonne (INSEE, 2006) nous a permis de d'estimer les flux spécifiques en Ag_P d'origine anthropique par surface à

15,0±10,3 g/km²/an et par habitant à 0,24±0,16 g/personne/an. Sur le bassin du Riou-Mort, où la contribution du flux en Ag_P d'origine anthropique est fortement dominante (81 à 99 % sur la période 1999-2009), ces flux sont de 281±226 g/km²/an et 2,5±2,0 g/personne/an.

7.2. Transfert de Ag

7.2.1. Flux bruts

Le flux brut correspond au flux de matière dissoute et particulaire mesuré à l'entrée de l'estuaire fluvial. Il est calculé d'après les débits et les concentrations en matières en suspension quotidiens et les concentrations en Ag dissous et particulaire mesurés tous les 24 jours aux sites représentant les principales entrées fluviales de l'estuaire de la Gironde. Ces sites sont situés en amont de la limite de marée dynamique (i.e. en amont de l'influence des marées et de la limite d'intrusion saline ; Chap. 2, Fig. 2.1). La fréquence d'échantillonnage des différents paramètres est adaptée à la variabilité des flux dans ce système fluvial (Coynel et al., 2004). Les sites suivis sont Pessac (Dordogne), Guîtres (Isle), La Réole (Garonne aval), Port Sainte Marie (Garonne centrale), Temple (Lot aval), Boisse Penchot (Lot amont) et le Riou-Mort. La gamme de variation ainsi que les concentrations moyennes en Ag_P et Ag_D sont reportées pour chaque site dans le tableau 7.1.

Tableau 7.1. *Concentrations typiques en Ag particulaire (Ag_P ; mg/kg) et dissous (Ag_D ; ng/l). « n.m. » : non mesuré.*

Site	Rivière	Ag_P (mg/kg) moyenne (min-max)	n	Ag_D (ng/l) moyenne (min-max)	n	Années suivies
Pessac	Dordogne	1,2 (0,13-3,4)	33	n.m.		2000-2002
Guîtres	Isle	0,69 (0,35-1,3)	29	n.m.		2000-2002
La Réole	Garonne (aval)	0,99 (0,23-4,9)	160	1,8 (<0,5-5,7)	84	1999-2009
Port Ste Marie	Garonne (centrale)	1,1 (0,25-4,9)	161	2,0 (<0,5-5,7)	85	1999-2009
Temple	Lot (aval)	1,3 (0,10-14)	168	1,2 (<0,5-3,5)	89	1999-2009
Boisse Penchot	Lot (amont)	1,3 (0,27-12)	85	1,7 (<0,5-4,8)	81	2004-2009
Riou-Mort	Riou-Mort	7,6 (0,28-260)	161	61 (1,7-1260)	82	1999-2009

Sur la période 2000-2003, les flux moyens annuels d'eau (16 km^3), de particules (1,2 Mt), et de Ag_P (1,2 Mt) transportés par la Garonne (La Réole) représentent la majorité du flux d'eau (60%), du flux de particules (70%), et du flux de Ag (75%) parvenant à l'estuaire de la Gironde (Tab. 7.2).

Tableau 7.2. *Flux annuels moyens d'eau, de particules, de Ag particulaire (Ag_P) et dissous (Ag_D) pour la Garonne, la Dordogne et la Gironde (Garonne + Dordogne). « * » période mesurée : 2004-2009. « n.m. » : non mesuré.*

Fleuve	Années suivies	Flux d'eau km^3/an	Flux de particules Mt/an	Flux Ag_P t/an	Flux Ag_D t/an
Garonne	1999-2009	16	1,3	1,2	0,026*
Garonne	2000-2002	16	1,2	1,2	n.m.
Dordogne	2000-2002	12	0,51	0,37	n.m.
Gironde	2000-2002	28	1,7	1,6	n.m.

Par conséquent, la stratégie d'observation a été intensifiée et focalisée sur les apports à l'estuaire par la Garonne, indiquant que l'essentiel du transport fluvial de Ag est assuré par la phase particulaire (96±2%), soit des flux bruts de 0,306 à 2,44 t/an pour Ag_P et de 0,008 à 0,041 t/an pour Ag_D (Fig. 7.3).

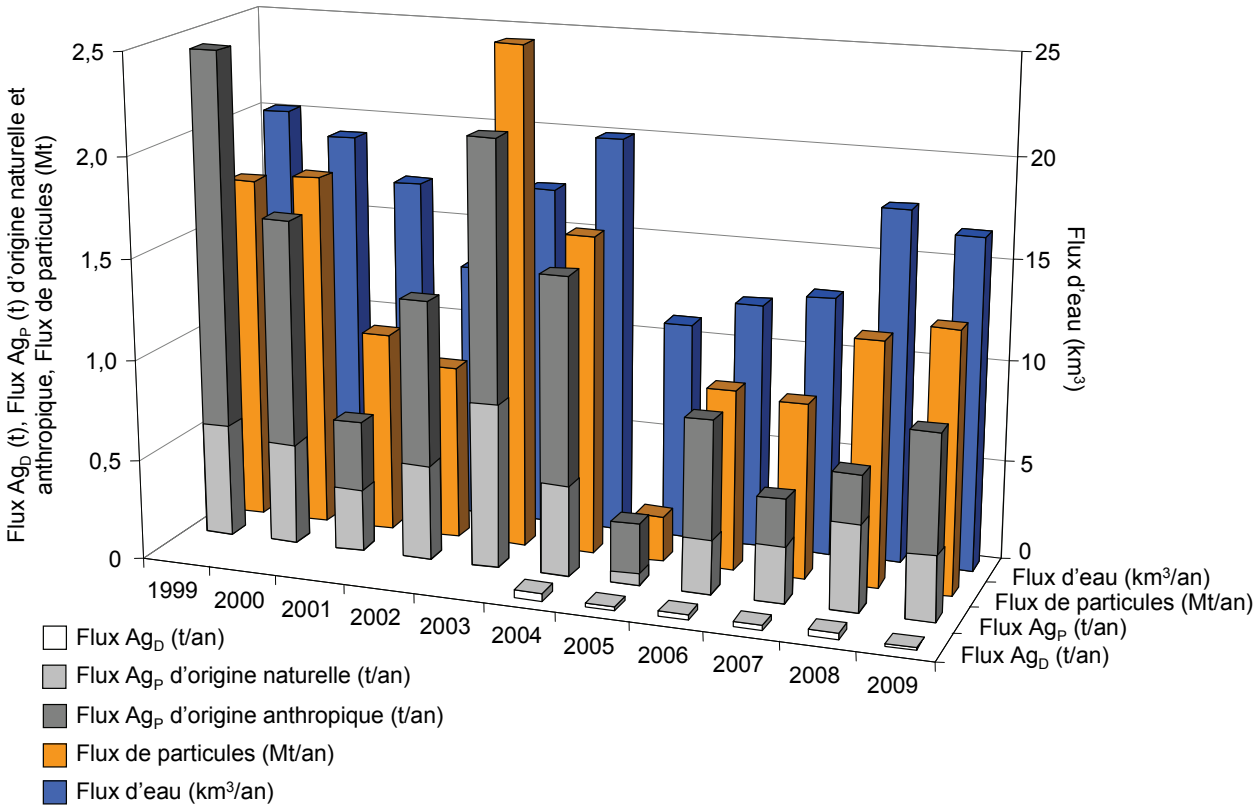

Figure 7.3. *Évolution des flux bruts de Ag dissous (Ag_D) et particulaire (Ag_P), des flux de particules et des flux d'eau (avec une échelle différente) apportés par la Garonne (mesurés à La Réole) depuis 1999 jusqu'à 2009. Les flux de Ag_P sont distingués selon leur origine naturelle (en lien avec le bruit de fond géochimique régional des particules) ou anthropique (par complément).*

La variabilité interannuelle des flux bruts de Ag pour la Garonne pendant ces 11 dernières années est d'environ 60% (Fig. 7.3) et est principalement dépendante de l'hydrologie. Malgré un flux d'eau moyen (17 km^3), l'absence de saison humide en 2005 (Masson et al., 2007) est la cause d'apports par la Garonne se démarquant significativement des autres années avec :
- le flux de particules le plus faible (0,3 Mt) et très inférieur à la moyenne (1,3 Mt ; Tab. 7.2),
- le flux brut en Ag le plus faible (0,3 t/an ; Tab. 7.2).

La part naturelle du flux de Ag_P liée au bruit de fond géochimique des particules du bassin versant représente de 20 à 65% des apports en Ag_P à l'estuaire par la Garonne (à La Réole), soit 0,057 à 0,817 t/an dont on ne peut cependant distinguer l'érosion naturelle liée à l'hydrologie et la part naturelle de Ag des particules remises en suspension des particules lors de travaux (Fig. 7.3).

7.2.2. Réactivité intra estuarienne

Parvenues dans l'estuaire, les particules sont soumises à des gradients géochimiques multiples dont notamment un gradient de salinité. La désorption d'une partie de Ag_P induite par la formation de chlorocomplexes est à l'origine de la diminution de 60-67% des concentrations en Ag_P des particules en suspension (i.e. de ~0,6 à 0,2 mg/kg ; soit réellement 52-61% de diminution après la correction de l'effet granulométrique par normalisation par Th_P) depuis le pôle fluvial vers le pôle marin de l'estuaire de la Gironde.

En conséquence, l'addition de Ag à la phase dissoute montre un maximum des concentrations en Ag_D (6 à 8 ng/l, indépendamment du débit) à la salinité de 15-25 suivie d'une diminution des concentrations par dilution au pôle marin (Ag_D en Atlantique Nord : 0,4 ng/l ; Rivera-Duarte et al., 1999) typique d'un comportement non conservatif et additif. Cependant, un minimum des concentrations en est constaté au niveau de la zone de turbidité maximale de l'estuaire de la Gironde, où la force d'attraction des ions chlorures est compensée par celles des particules extrêmement concentrées (e.g. Ag_D : 1,3 ng/l, MES : 2,7 g/l en avril 2008). Ce constat implique que la distribution estuarienne de Ag_D dans le gradient estuarien girondin n'est pas seulement fonction de la salinité (e.g. estuaire de Fal, Grande Bretagne, Tappin et al., 2010) mais aussi de la compétition entre les ions chlorures et les particules. Ceci nécessite donc de distinguer les estuaires fortement turbides des autres pour l'étude du comportement et de la distribution de Ag_D.

La quantité de Ag porté par les particules (Ag_P) et potentiellement désorbable par les processus estuariens au cours du transport des particules depuis le continent vers l'océan (temps de résidence des particules dans l'estuaire de 1-2 ans ; Jouanneau et Latouche, 1981) correspond à la fraction de Ag_P soluble dans une solution HCl (1M), caractérisant la fraction réactive et potentiellement biodisponible des métaux liés à la phase particulaire (Bryan et Langston, 1992 ; Langston et al., 1999).

7.2.3. Exports vers le domaine côtier

Les flux nets correspondent au flux résiduel réellement apporté à l'océan, c'est-à-dire s'affranchissant des différents processus hydrologiques et géochimiques estuariens. Le flux net journalier en Ag_D a été estimé au cours de trois profils longitudinaux de Ag_D en situations hydrologiques contrastées (i.e. débit moyen et crue) par la méthode de Boyle (Boyle et al., 1974, 1982). La concentration théorique de Ag_D estimée selon la méthode de Boyle à salinité S = 0 en condition de débit moyen est de 25 ± 4 ng/l. Une concentration similaire de Ag_D a été estimée en situation de crue (25 ng/l). L'absence d'effet de la variation du débit, entre un débit moyen et une situation de crue, sur la concentration théorique à salinité S = 0 a été récemment mise en évidence pour Cd (Dabrin et al., 2009).

Ainsi, l'export de Ag_D vers le domaine côtier est de 1,7 ± 0,5 kg/j et 1,6 ± 0,2 kg/j respectivement en période de débit moyen en mars et juin 2009. En situation de crue (avril 2008), le flux net augmente à 5,0 kg/j.

Extrapolés à partir des flux nets journalier avec une erreur estimée de ~20-25%, les flux nets annuels de Ag_D sont compris entre 0,64 à 0,88 t/an en 2008 contre 0,56 à 0,77 t/an en 2009. Ils sont 12 à 50 fois supérieurs aux flux en Ag_D entrants dans l'estuaire pour les années correspondantes. En comparaison, la somme des flux entrants en Ag_D avec la quantité de Ag_D issue de la désorption de 60% des flux entrants en Ag_P donne une gamme de Ag_D potentiellement exportable (0,45 à 0,73 t/an) similaire aux flux nets annuels en Ag_D sur la période 2006-2008.

Le flux net annuel en Ag_P peut être estimé d'après les concentrations minimale et maximale en Ag_P au pôle marin (0,18-0,24 mg/kg) et un export de 1,5 Mt/an de particules (Castaing et Jouanneau, 1987), soit un export annuel de Ag_P vers le domaine côtier de 0,27 à 0,36 t/an.

En conséquence, le flux total exporté en Ag (0,91 à 1,25 t/an en 2008 ; 0,83 à 1,13 t/an en 2009) est équivalent au flux brut en Ag (0,83 à 0,97 t/an en 2008 ; 1,1 à 1,3 t/an en 2009). Les

marges d'erreur des flux masquent donc les sources/puits intra-estuarien en Ag pour les années 2008 et 2009. Toutefois, la différence amont-aval de la partition de Ag entre la phase particulaire et la phase dissoute (i.e. 96% des flux de Ag sont représentés par la phase particulaire dans le domaine fluvial contre ~30% au pôle marin) souligne une pression d'exposition supérieure des organismes aquatiques dans le gradient salin.

En période de crue, les particules éjectées ayant un rapport Ag_P/Th_P supérieur à 0,025 n'ont pas atteint le stade ultime de désorption mesuré dans le sédiment de la grande vasière Ouest Gironde. En situation de fort débit, la mobilisation de Ag depuis la phase particulaire vers la phase dissoute peut alors se poursuivre en domaine côtier et dans les écosystèmes adjacents tel que la Baie de Marennes Oléron.

7.3. Bioaccumulation de Ag

7.3.1. Biosurveillance du milieu : les huîtres du RNO

L'analyse comparative des concentrations en Cd et en Ag de la banque d'échantillon d'huîtres *Crassostrea gigas* collectées à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde ces trente dernières années dans le cadre de la biosurveillance du milieu marin par l'IFREMER (1979-2007 ; RNO) a permis de distinguer la pollution minière et industrielle en Cd et en Ag du bassin de Decazeville de pollution(s) additionnelle(s) en Ag plus contemporaine(s).

Les concentrations en Cd dans les huîtres, stables de 1979 à 1988 puis diminuant progressivement jusqu'en 2007 (Cd : ~90 à 30 mg/kg, poids sec), reflètent les rejets industrielles, l'arrêt des émissions à partir de 1986 et les moyens de remédiation qui ont suivis. Malgré l'émission conjointe de Cd et Ag durant la période industrielle à Decazeville et un rapport des concentrations Cd/Ag dans les huîtres constant avant 1986, les concentrations en Ag dans les huîtres sont au contraire maximales sur la période 1993-2003 (Ag : ~50 à 100 mg/kg, ps), indiquant une contribution croissante de sources additionnelles en Ag à partir des années 1986 (>70% depuis 1999) liée au développement des utilisations de Ag dans le secteur de la photographie, de l'électronique ou plus récemment des nano-techniques.

Récemment (2004-2007), le facteur de bioconcentration minimal de Ag (concentration de Ag dans l'organe/concentration Ag_D dans l'eau) dans les huîtres du site de La Fosse ($6{,}25\ 10^6$) était 40 fois supérieur à celui de Cd ($0{,}15\ 10^6$), soulignant la biodisponibilité de Ag pour ces organismes.

7.3.2. Biosurveillance : l'anguille européenne *Anguilla anguilla*

7.3.2.a. Biosurveillance : anguilles sauvages

La mesure des concentrations en Ag dans les différents organes des anguilles européennes, espèce emblématique à forte valeur économique, a été réalisée pour des individus pêchés tout au long du continuum fluvio-estuarien de la Gironde lors de cette étude (2009) et d'une étude précédente (2005, SMIDDEST, réalisée dans le cadre de la thèse de Fabien Pierron).

Une accumulation supérieure de Ag dans le foie (organe principal d'accumulation de Ag) a été mesurée pour les anguilles de l'estuaire salin (e.g. 0,7±0,6 mg/kg, ps à Saint Vivien), en comparaison des concentrations mesurées dans ce même organe pour les anguilles pêchées en rivière (e.g. 0,3±0,1 mg/kg, ps à Fronsac). Pourtant, le calcul du FBC dans le foie des anguilles indique une biodisponibilité inférieure de Ag à Saint Vivien (FBC = 19±16 10^4) par rapport à Fronsac (FBC = 32±15 10^4).

Les concentrations en Ag dans les reins (e.g. 0,2±0,2 mg/kg, ps ; Saint Vivien) étaient globalement inférieures à celles mesurées dans le foie des anguilles (e.g. 0,7±0,6 mg/kg, ps ; Saint Vivien). Comme pour le foie, les concentrations en Ag sont supérieures dans les reins des anguilles échantillonnées dans l'estuaire salin (0,05±0,02 mg/kg, ps ; Saint Vivien) par rapport aux concentrations en Ag dans les reins des anguilles de rivière (0,2±0,2 mg/kg, ps ; Fronsac). Cependant, le FBC de Ag dans les reins est similaire en matrice salée et en eau douce (i.e. pour Ag^+ et Ag-Cl ; Saint Vivien : 6,4±5,2 10^4 ; Fronsac : 4,9±2,4 10^4), indiquant que cet organe est plus à même de distinguer la pression d'exposition des anguilles entre les différents sites que le foie.

7.3.2.b. Biosurveillance : mise en cage d'anguilles

Le recours à la technique de mise en cage d'anguilles dans différents sites de l'estuaire de la Gironde pour une durée d'exposition de 3 mois a permis de distinguer les voies de contamination de l'anguille par Ag à un niveau environnemental d'exposition. Les concentrations en Ag dans les différents organes après exposition ont été comparées aux concentrations des organes des anguilles « témoins » issues du même lot de pêche et sacrifiées au départ de l'expérimentation.

Au cours de l'expérimentation, une dépuration des branchies en Ag a été observée pour les anguilles du site le plus amont (Cadaujac, rivière) par rapport aux branchies des anguilles témoins, ainsi que par rapport aux branchies des anguilles du site le plus aval (Pauillac, estuaire central). Durant la période d'exposition, les concentrations en Ag_D étaient inférieures au site amont (Cadaujac : <0,6 ng/l) en comparaison à celles du site aval (Pauillac : 0,6 à 6 ng/l). Par conséquent, la pression d'exposition par la voie directe était inférieure en rivière.
Une des originalités de l'expérimentation en cage a été de contrôler la nourriture des anguilles afin de déterminer l'impact de la voie trophique sur la contamination des anguilles, notamment en Ag. Pour cela, les anguilles ont été nourries soit avec des crevettes pêchées en Gironde (Ag = 0,29±0,08 mg/kg, pf) soit avec des crevettes pêchées dans le domaine de Certes (Ag = 0,14±0,03 mg/kg, pf).

Parmi l'ensemble des organes étudiés (branchies, muscle, intestins, estomac, foie et reins), les résultats indiquent que seul les concentrations en Ag des estomacs des anguilles nourries aux crevettes de Gironde témoignent d'une exposition supérieure à Ag par la voie trophique des anguilles témoins et des anguilles provenant de l'ensemble des sites d'expérimentation (Cadaujac, Bordeaux et Pauillac) au cours des trois mois d'expérimentation. Bien que le foie soit l'organe d'accumulation principal de Ag chez les anguilles, les concentrations en Ag du foie, dix fois supérieures à celles des muscles, reins, branchies et intestins et deux fois supérieures à celles de l'estomac, ne sont pas suffisamment modifiées pour identifier une exposition à un niveau de contamination environnemental et d'une durée de 3 mois dans l'estuaire de la Gironde.

7.3.3. Bioaccumulation dans les crevettes

Des crevettes blanches *Palaemon Longirostris* (espèce autochtone, n=45) et *Palaemon Macrodactylus* (espèce introduite, n=24) ont été échantillonnées au PK50 (Blayes, estuaire central) de l'estuaire de la Gironde au cours de la thèse de Mélanie Béguer entre mai 2006 et juin 2007. Pour ces deux espèces, l'organe d'accumulation de Ag était l'hépatopancréas. L'espèce introduite *P. Macrodactylus* présentaient des concentrations en Ag supérieures à celles de *P. Longirostris* à la fois dans le muscle (1,8±1,2 mg/kg, ps et 1,0±0,7 mg/kg, ps, respectivement) et dans l'hépatopancréas (8,9±6,4 mg/kg, ps et 6,1±5,6 mg/kg, ps, respectivement). Cette différence pourrait être expliquée par une aire de distribution

globalement plus marine (i.e. dans une zone où Ag_D est maximal) de *P. Macrodactylus* par rapport à *P. Longirostris*, tels que le confirme des travaux récents (Béguer et al., soumis).
Comparativement aux anguilles, les crevettes accumulent plus Ag que les anguilles pêchées dans la même zone (Saint Estèphe) et présentent dans l'hépatopancréas des concentrations en Ag et des FBC ($FBC_{(P.\ longirostris)} = 3,0\pm2,3\ 10^6$, n = 42 ; $FBC_{(P.\ macrodactylus)} = 4,7\pm3,6\ 10^6$, n = 22) supérieurs d'un ordre de grandeur à ceux du foie des anguilles (0,39±0,33 mg/kg, ps ; FBC = $21\pm17\ 10^4$, n = 12).

En conclusion :

- ✓ La contamination des anguilles par la voie trophique et la voie directe a été mise en évidence.
- ✓ Il n'existe pas de bioamplification de Ag entre les proies (crevettes) et les prédateurs (anguilles).
- ✓ L'accumulation de Ag chez les huîtres, les anguilles et les crevettes témoigne d'une pression d'exposition des organismes à Ag supérieure dans l'estuaire salin.

En conséquence, la détermination de la vulnérabilité estuarienne des organismes aquatiques vis-à-vis de Ag doit se baser sur la connaissance des processus géochimiques estuariens contrôlant la mobilisation et la spéciation de Ag_D.

Conclusion

Le passé minier de certains bassins versants et l'essor contemporain des secteurs d'application de l'argent (Ag ; e.g. la photographie, l'électronique et plus récemment les nanotechnologies) font de Ag un polluant à la fois historique et émergent. L'objectif de ce travail était d'estimer les sources, les transferts et la bioaccumulation de Ag dans le système fluvio-estuarien de la Gironde. Connu pour la richesse de ses poissons migrateurs et pour sa pollution polymétallique historique (principalement en Cd), ce système aquatique complexe est au centre de nombreuses recherches et suivis de qualité environnementale et s'est imposé comme un modèle d'étude idéal. Les résultats originaux sur la biogéochimie de Ag obtenus dans le cadre de cette thèse font l'objet d'une publication, d'un article soumis, d'un article en préparation, de 10 communications et permettent de dégager les conclusions suivantes :

1. L'ancienne activité industrielle et minière dans le bassin de Decazeville et ses résidus ont été une source commune de Cd et de Ag pour le système Lot-Garonne-Gironde pendant des décennies.

L'enregistrement historique des concentrations en Ag et en Cd dans les sédiments des retenues de barrage situées sur le Lot distingue très nettement d'une part, le bruit de fond géochimique (Ag : 0,3 mg/kg ; Cd : 0,8 mg/kg), et d'autre part, la pollution engendrée par les rejets industriels et miniers passés provenant du bassin de Decazeville (Ag : jusqu'à 7 mg/kg ; Cd : jusqu'à 300 mg/kg). Depuis l'arrêt des émissions en 1986, les concentrations en Ag et en Cd dans les sédiments en aval ont diminué progressivement mais restent cependant toujours supérieures au bruit de fond (Ag : ~0,6 mg/kg; Cd : ~14 mg/kg). Ces concentrations toujours anormalement élevées sont la conséquence des apports continus du Riou Mort, drainant le bassin de Decazeville, qui sont liés au lessivage et à l'érosion des terrils. La banque d'échantillons issue du suivi d'observation (EPOC-TGM ; 1999-2009) a permis de démontrer que les concentrations en Ag particulaire (Ag_P) et dissous (Ag_D) dans cette rivière sont très supérieures (jusqu'à 260 mg/kg pour Ag_P et 1260 ng/l pour Ag_D) aux concentrations mesurées pour l'ensemble du système Garonne-Lot-Dordogne-Isle (0,13 à 14 mg/kg pour Ag_P ; <0,5 ng/l à 5,7 ng/l pour Ag_D). Ces concentrations localement élevées doivent toutefois être relativisées quant à la contribution du Riou Mort (Ag_P <11% ; Ag_D : <6%) aux flux de Ag de la Garonne mesurés à La Réole (Ag_P : 0,306 à 2,44 t/an ; Ag_D : 0,008 à 0,041 t/an),

minimisant l'impact des exportations actuelles du bassin de Decazeville sur l'ensemble du système Lot–Garonne–Gironde.

2. La biosurveillance du milieu (1979-2007) indique l'existence de sources additionnelles en Ag depuis les années 1990.

Les rejets du bassin de Decazeville sont à l'origine des concentrations en Cd dans les huîtres collectées à l'embouchure de l'estuaire de la Gironde (RNO, Ifremer), 400 km en aval. Les concentrations en Cd en poids sec (ps) d'huître sont stables jusqu'en ~1988 et diminuent depuis lors (de ~90 à 30 mg/kg, ps), en lien avec la diminution des émissions depuis l'arrêt des activités industrielles en cause en 1986. Bien que les concentrations en Ag dans les huîtres soient-elles aussi stables jusqu'en 1988, elles deviennent maximales après 1993 (de ~40 à plus de 100 mg/kg, ps). Le rapport moyen Cd/Ag, calculé à partir des concentrations dans les huîtres avant 1986, permet d'estimer la contribution des rejets en Ag provenant du bassin de Decazeville aux concentrations en Ag mesurées dans les huîtres au cours du temps à partir de leurs concentrations en Cd. Ainsi, l'augmentation des concentrations en Ag après 1993 est attribuée à la contribution croissante (supérieure à 70% dès 1999) de sources additionnelles en Ag, distinctes des rejets du bassin versant de Decazeville.

Parmi les sources soupçonnées, l'industrie photographique argentique a déjà été mis en cause dans la pollution d'écosystèmes aquatiques par Ag (Flegal et al., 2007). L'évolution des ventes de films photographiques argentiques est un estimateur potentiel des rejets liés à cette activité industrielle en France. Tout comme les concentrations en Ag dans les huîtres, elles sont maximales dans les années 1990, augmentant de 100 à 136 millions. Leur chute de 115 millions en 2003 à 25 millions en 2007 coïncide avec la diminution des concentrations en Ag dans les huîtres (70 mg/kg, ps en 2003 à 40 mg/kg, ps en 2005). Cependant, une nouvelle augmentation des concentrations en Ag dans les huîtres en 2006-2007 (55 mg/kg, ps) implique des sources supplémentaires qui peuvent être liées au développement des secteurs d'application de Ag tels que l'électronique et les nanotechnologies. Dans l'estuaire de la Gironde, la protection contre la grêle des vergers et vignobles girondins par la technique d'ensemencement des nuages par iodure de Ag est une source non négligeable rejetant 30 à 63 kg Ag/an dans le système aquatique, soit l'équivalent des rejets en Ag des stations de traitement des eaux des villes de Toulouse et de Bordeaux (~2,1 millions d'habitants), estimés entre 42 et 57 kg/an.

3. Selon le suivi d'observation (1999-2009), la majorité (63 à 83%) des apports en Ag à l'estuaire est transportée par la Garonne (0,008 à 0,041 t/an pour Ag_D et de 0,306 à 2,44 t/an pour Ag_P), principalement sous forme particulaire (à 96±2%). Les concentrations moyennes de cette rivière sont de 1,0±0,4 mg/kg pour Ag_P et de 1,8±0,7 mg/kg pour Ag_D. Aucune variabilité saisonnière des concentrations en Ag_P (1999-2009) et en Ag_D (2004-2009) n'a été mise en évidence sur l'ensemble du système Lot-Garonne. La diminution globale des concentrations entre les années 2005-2006 et 2009 correspond à une dilution liée à l'hydrologie plutôt qu'à une diminution des rejets en Ag. Le transport de Ag est donc fortement lié à l'hydrologie du système, nécessitant une stratégie d'échantillonnage adaptée à une telle réactivité.

4. Le rapport des concentrations particulaires Ag_P/Th_P=0,026 définit un bruit de fond géochimique régional indépendant de l'effet granulométrique, pour l'ensemble du bassin versant de l'estuaire de la Gironde. Calculée à partir de ce rapport, la part liée à la composition naturelle des particules représente l'érosion naturelle (e.g. crue, lessivage) et anthropique (e.g. travaux, gestion des barrages) des sols et sédiments. Ainsi, 0,06 à 0,82 t/an soit de 20% en 2005 (année sèche) à 65% en 2008 (année humide) du flux en Ag_P de la Garonne sont liées à la composition naturelle des particules en Ag sur la période 1999-2009. En comparaison, seuls 1 à 20% des flux en Ag_P du Riou-Mort sont d'origine naturelle.

5. Les flux anthropiques spécifiques en Ag_P estimés par unité de superficie et par habitant à l'échelle du bassin versant de la Garonne (La Réole) sont de 15±10 g/km²/an et 0,24±0,16 g/hab/an, alors que les valeurs maximales sont mesurées sur le bassin du Riou-Mort avec 281±226 g/km²/an et 2,5±2,0 g/hab/an.

6. Trois campagnes océanographiques (2008-2009) ont documenté le comportement non conservatif et additif de Ag_D dans le gradient salin estuarien lié à la désorption de Ag_P par les ions chlorures, avec des concentrations maximales (6-8 ng/l) à salinité 15-25. Les processus estuariens auxquels sont soumis les particules durant leur transport à travers l'estuaire (1-2 ans) conduisent à la désorption de ~60 % de Ag_P, correspondant à la fraction potentiellement disponible estimée par une extraction HCl (1 M).

7. Extrapolé des flux nets journaliers, l'export annuel de Ag_D vers le domaine côtier en 2008 et 2009, où les flux d'eau annuels étaient respectivement de 30 km^3 et de 27 km^3,

représentait 0,64 à 0,89 t/an en 2008 et 0,56 à 0,77 t/an en 2009. Cette quantité correspond à celle estimée à partir des flux entrants en Ag_D dans l'estuaire additionnée de la désorption de 60 % du flux entrant en Ag_P (0,45 à 0,73 t/an pour 2006-2008), ne permettant pas de distinguer l'existence de sources estuariennes supplémentaires pour ces deux années. Cependant, à la différence des flux bruts en Ag représentés à 96% par la phase particulaire, les flux nets en Ag_P, estimés à 0,27 à 0,36 t/an, ne représentent plus que de 30% du flux total exporté. La pression d'exposition des organismes aquatiques à Ag_D devient donc supérieure dans le gradient salin.

8. Bien que la forme ionique Ag^+ (dominante en eau douce) soit considérée comme la forme la plus biodisponible, la bioconcentration de Ag dans les organismes aquatiques (huîtres, crevettes et anguilles) reflète la pression d'exposition supérieure en eau saumâtre.

Les concentrations systématiquement plus élevées en Cd et en Ag dans les huîtres de la station du réseau de surveillance (RNO, Ifremer) la plus interne de l'estuaire (salinité typique 15-25), est en accord avec le comportement additif de ces deux métaux dans le gradient de salinité estuarien et la dilution par les eaux marines faiblement concentrées (Ag_D : 0,4 ng/l ; Atlantique Nord ; Rivera-Duarte et al., 1999). De même, l'accumulation de Ag est supérieure chez les **crevettes** exotiques *Palaemon macrodactylus* par rapport aux crevettes natives *Palaemon longirostris* dont l'aire de répartition est plus interne à l'estuaire. Il est à noter que dans les **huîtres** de l'embouchure de l'estuaire de la Gironde, le facteur de bioaccumulation de Ag ($6,25\ 10^6$) est ~40 fois supérieur à celui de Cd ($0,15\ 10^6$).

L'analyse des concentrations en Ag dans les organes des **anguilles européennes sauvages** capturées lors de campagnes de pêche en 2005 et en 2009 et le calcul des facteurs de bioconcentration (FBC) indiquent que le foie est le principal organe d'accumulation de Ag. Malgré la biodisponibilité supérieure de Ag^+ dans le foie ($FBC=32\pm15\ 10^3$) par rapport aux chlorocomplexes formés par Ag ($FBC=19\pm16\ 10^3$), aucune différence d'accumulation n'existe entre les anguilles de rivière et celles de l'estuaire aval qui étaient soumises à une pression d'exposition à Ag_D supérieure. Cependant, la capacité des reins à bioconcentrer autant Ag en eau douce ($FBC=4,9\pm2,4\ 10^3$) qu'en eau saumâtre ($FBC=6,4\pm5,2\ 10^3$) semble les désigner comme un organe plus à même de distinguer la pression d'exposition à Ag entre les sites.

L'exposition *in situ* d'anguilles, espèce recommandée pour la biosurveillance du milieu dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau, dans différents sites clé de l'estuaire a permis de

mettre en évidence les voies directes et trophiques de la contamination en Ag à des niveaux de contamination environnementaux et pour une durée d'exposition de 3 mois.

Cette étude constitue un premier bilan de la contamination par Ag de l'estuaire de la Gironde. La stratégie d'étude en parallèle des concentrations en Ag et en Cd dans les sédiments et les huîtres de l'estuaire de la Gironde a permis de distinguer la contamination historique liée à la pollution industrielle et minière des sources en Ag plus récentes. L'échantillonnage à haute fréquence des concentrations en Ag_D et en Ag_P, des concentrations en matières en suspension et des débits couvrant des années hydrologiques contrastées, garantit la représentativité des résultats obtenus par une fréquence adaptée à la réactivité de cet écosystème. L'effet des processus estuarien sur le transfert de Ag dans le gradient de salinité et de turbidité estuarien a pu être approché par des campagnes océanographiques d'échantillonnage. Toutefois, des études complémentaires sont envisageables pour compléter notre compréhension de la distribution de Ag dans un tel écosystème.

Perspectives

Les résultats originaux obtenus au cours de cette étude permettent d'envisager de nouvelles perspectives pour des études futures. Ces questionnements scientifiques concernent deux axes de travail :

- la caractérisation qualitative et quantitative des sources de Ag dans les milieux aquatiques
- le devenir et l'impact des nanoparticules synthétiques de Ag dans les systèmes fluvio-estuariens

Caractérisation qualitative et quantitative des sources de Ag dans les milieux aquatiques

Sur la base des résultats obtenus dans ce travail, il convient de compléter et préciser les informations existantes concernant les émissions de Ag dans ses différentes formes (dissous, particulaire et nano-Ag) dans les milieux aquatiques à l'aide des actions ciblées suivantes :

1. Quantifier plus précisément les flux entrant et sortant en Ag des stations de traitement des eaux (STEP) de la Communauté Urbaine de Bordeaux et déterminer leurs capacités d'abattement. Vérifier l'existence éventuelle de cycle journalier des apports en Ag aux STEP pour appréhender le lien entre usages et émissions, tels que les soins personnels, les activités hospitalières ou les activités industrielles.

2. Déterminer la contribution des rivières du bassin versant bordelais, dans lesquelles sont rejetées les eaux traitées des STEP environnantes, au budget de Ag à l'échelle estuarienne. Etablir une cartographie de la contamination de l'estuaire en Ag et de ses bassins versants à partir des bases de données constituées par l'équipe TGM afin de visualiser les zones d'émissions passées, actuelles et nouvelles dans l'optique d'un développement des technologies utilisant Ag.

3. Développer des méthodes d'analyse du fractionnement isotopique naturel de Ag afin de tracer très finement les sources de Ag dans l'environnement (e.g. résidus de l'industrie métallurgique, rejets urbains et domestiques, etc.), ainsi que les processus de transfert dans le milieu aquatique naturel (e.g. adsorption/désorption, précipitation/dissolution,

bioaccumulation). Développer des couplages de techniques microscopiques et spectroscopiques situées (e.g. visualiser, identifier et localiser des nanoparticules de Ag dans les organismes aquatiques).

Le devenir et l'impact des nanoparticules synthétiques de Ag dans systèmes fluvio-estuariens

Il existe pour le moment un bénéfice clairement identifié et immédiat des nanoparticules de Ag qui prévaut sur des risques encourus qui restent encore inconnus et hypothétiques comme ont pu l'être dans le passé les pesticides, les algicides (TBT → masculinisation des femelles), les médicaments (pilule contraceptive → féminisation des mâles) et les énergies fossiles (→ changement climatique ; Colvin, 2003).
Afin de fournir aux gestionnaires les moyens de réglementer l'utilisation des nanoparticules de Ag, leur étude doit passer par la connaissance de sources, des voies de contamination, des récepteurs et de leur impact sur les organismes (Owen et Handy, 2007). Pour définir la toxicité des nano-Ag, il sera donc important de :

4. Déterminer les processus d'adsorption-désorption des nano-Ag dans les gradients géochimiques estuariens afin d'estimer leur réactivité et leur capacité de transfert vers les organismes aquatiques.

5. D'identifier les voies d'exposition des organismes aquatiques aux nanoparticules de Ag qui selon leurs spécificités (taille, forme, etc.) pourraient émettre des ions Ag^{+} dans le milieu extracellulaire ou intracellulaire (dans quel cas les nanoparticules joueraient le rôle de « cheval de Troie » ; Luoma, 2008).

6. Quantifier la taille et la forme des particules de Ag parvenant dans les STEP. L'analyse des eaux traitées permettrait de connaître l'efficacité du traitement des eaux usées pour des nanoparticules et des colloïdes de Ag qui pourraient traverser sans être piégées les différentes étapes de traitement. Il sera important de déterminer si les particules de Ag subissent des modifications structurales et/ou chimiques lors du traitement des eaux pouvant avoir une influence sur leur réactivité et impact potentiel dans le milieu naturel récepteur.

7. Déterminer si les nanoparticules de Ag utilisées dans les produits domestiques peuvent influencer les processus de traitement biologique des eaux usées. En effet, le potentiel toxicologique envers les bactéries employées pour le traitement biologique dans les STEP est entièrement inconnu actuellement. Des expérimentations sous conditions réalistes et contrôlées permettront d'évaluer la vulnérabilité (inhibition de la respiration, modification des communautés bactériennes, baisse de rendement, etc.) des dispositifs biologiques de traitement des eaux usées et de développer des seuils de tolérance et des scénarii d'évolutions futures à court et moyen terme des rejets de Ag liés aux nouvelles applications techniques (vêtements, produits de soin, etc.).

8. D'identifier par des techniques de pointe (e.g. DET/DGT/DMT, dialyse et ultrafiltration, Field flow fractionation-ICP-MS, voltamétrie, etc.) la distribution de taille, la spéciation et la biodisponibilité de Ag dans le milieu. Un enjeu de la compréhension de la réactivité, du transport et de la toxicité de Ag repose en effet sur la distinction dans le milieu entre les ions Ag^{+}, les colloïdes de Ag, les nanoparticules de Ag naturelles et les nanoparticules de Ag synthétisées.

Bibliographie

A

Abbe, G.R., Sanders, J.G., 1990. Pathways of silver uptake and accumulation by the American oyster (*Crassostrea virginica*) in Chesapeake Bay. Estuar. Coast. Shelf Sci. 31, 113–123.

Abril, G., 1999. Dynamique du carbone dans les estuaires européens : processus de minéralisation et transfert continent-océan-atmosphère. Thèse Doctorat, Université Bordeaux 1, pp. 294.

Abril, G., Etcheber, H., Le Hir, P., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., 1999. Oxic/Anoxic Oscillations and Organic Carbon Mineralization in an Estuarine Maximum Turbidity Zone (The Gironde, France). Limnol. Oceanogr. 44, 1304–1315.

Abril, G., Nogueira, M., Etcheber, H., Cabeçadas, G., Lemaire, E., Brogueira, M.J., 2002. Behaviour of organic carbon in nine contrasting European estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 54, 241–262.

Adams, N.W.H., Kramer, J.R., 1998. Reactivity of Ag^+ ion with thiol ligands in the presence of iron sulfide. Environ. Toxicol. Chem. 17, 625–629.

Adams, N.W.H., Kramer, J.R., 1999. Silver speciation in wastewater effluent, surface waters, and pore waters. Environ. Toxicol. Chem. 18, 2667–2673.

Adriano, D.C., 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. 2nd Edition. Springer, New York.

Allen, G.P., 1972. Étude des processus sédimentaires dans l'estuaire de la Gironde. Thèse Etat, Université Bordeaux 1, pp. 310.

Allen, G.P., Castaing, P., 1977. Carte de répartition des sédiments superficiels sur le plateau continental du Golfe de Gascogne. Bull. Inst. Geol. Bassin Aquitaine.

Allen, G.P., Salomon, G.J.C., Bassoulet, P., Penhoat, Y.D. Grandpré, C.D., 1980. Effects of tides on mixing and suspended sediment transport in macrotidal estuaries. Sedimentary Geology 26, 69–90.

Allen, G.P., Sauzay, G., Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1977. Transport and deposition of suspended sediment in the Gironde Estuary, France. In: Wiley, M. (Ed.). Estuarine processes (proc. Third int. estuarine research conf. Gavelston, U.S.A.: Oct. 7-9, 1975), 2 , Circulation, Sediments and Transfer of Material in the Estuary, New York, U.S.A., Academic Press, pp. 63–81.

Amiard-Triquet, C., Martoja, R., Mareaillou, C., 1992. Alternative methodologies for predicting metal transfer in marine food webs including filter feeders. Wat. Sci. Tech. 25, 197–204.

Andren, A.W., Armstrong, D.E., 1999. The environmental chemistry and toxicology of silver. Environ. Toxicol. Chem. 18, 1–2.

Anschutz, P., Zhong, S. Sundby, B., Mucci, A., Gobeil, C., 1998. Burial efficiency of phosphorus and the geochemistry of iron in continental margin sediments. Limnol. Oceanogr. 43, 53–64.

Anschutz, P., Sundby, B., Lefrançois, I., Luther, G.W. III, Mucci, A., 2000. Interactions between metal oxides and nitrogen and iodine in bioturbated marine sediments. Geochim. Cosmochim. Acta 64, 2751–2763.

Arnason, J.G., Fletcher, B.A., 2003. A 40+ year record of Cd, Hg, Pb, and U deposition in sediments of Patroon Reservoir, Albany County, NY, USA. Environ. Pollut. 123, 383–391.

Audry, S., 2003. Bilan géochimique du transport des éléments traces métalliques dans le système fluvial anthropisé Lot-Garonne-Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 343.

Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2004a. Cadmium transport in the Lot-Garonne River system (France) - temporal variability and a model for flux estimation. Sci. Total Environ. 319, 197–213.

Audry, S., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Solid state partitioning of trace metals in suspended particulate matter from a river system affected by smelting-waste drainage. Sci. Total Environ. 363, 216–236.

Audry, S., Blanc, G, Schäfer, J, Robert, S., 2007. Effect of estuarine sediment resuspension on early diagenesis, sulfide oxidation and dissolved molybdenum and uranium distribution in the Gironde estuary, France. Chem. Geol. 238, 149–167.

Audry, S., Grosbois, C., Bril, H., Schäfer, J., Kierczak, J., Blanc, G., 2010. Post-depositional redistribution of trace metals in reservoir sediments of a mining/smelting-impacted watershed (the Lot River, SW France). Appl. Geochem. 25, 778–794.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., Lavaux, G., 2004b. Anthropogenic components of heavy metal (Cd, Zn, Cu, Pb) budgets in the Lot–Garonne fluvial system (France). Appl. Geochem. 19, 769–86.

Audry, S., Schäfer, J., Blanc, G., Jouanneau, J.-M., 2004c. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River reservoirs (France). Environ. Pollut. 132, 413–26.

B

Barriada, J.L., Tappin, A.D., Evans, E.H., Achterberg, E.P., 2007. Dissolved silver measurements in seawater. Trends Anal. Chem. 26, 809–817.

Barriada, J.L., Truscott, J.B., Achterberg, E.P., 2003. Automation of a flow injection system for the determination of dissolved silver at picomolar concentrations in seawater with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. J. Autom. Methods Manage. Chem. 25, 93-100.

Baudin, J.P., Garnier-Laplace, J., Lambrechts, A., 1994. Uptake from water, depuration and tissue distribution of 110mAg in a freshwater fish *Cyprinus carpio* L. Water Air Soil Pollut. 72, 129–141.

Béguer, M., 2009. Réponses d'une population aux forçages environnementaux et anthropiques : le suivi à long terme de la crevette *Palaemon longirostris* de l'estuaire de la Gironde (1979-2007). Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 250.

Béguer, M., Bergé, J., Martin, J., Martinet, J., Pauliac, G., Girardin, M., Boët, P.. *Palaemon macrodactylus*: an invasive and highly competitive shrimp in European estuaries. The case of the Gironde estuary (SW France, Atlantic coast). Submitted to Aquatic Invasions (19/10/2010).

Béguer, M., Girardin, M., Boët, P., 2007. First record of the invasive oriental shrimp *Palaemon macrodactylus* Rathbun, 1902 in France (Gironde Estuary). Aquatic invasion 2, 99–103.

Béguer, M., Pasquaud, S., Noël, P., Girardin, M., Boët, P., 2008. First description of heavy skeletal deformations in Palaemon shrimp populations of European estuaries: the case of the Gironde (France). Hydrobiologia 607, 225–229.

Bell, R.A., Kramer, J.R., 1999. Structural chemistry and geochemistry of silver-sulfur compounds: critical review. Environ. Toxicol. Chem. 18, 9–22.

Belpaire, C., Goemans, G., 2007. Eels: contaminant cocktails pinpointing environmental contamination. ICES J. Mar. Sci. 64, 1423–1436.

Benn, T.M., Westerhoff, P., 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. Environ. Sci. Technol. 42, 4133–4139.

Benoit, G., Rozan, T.F., 1999. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. Geochim. Cosmochim. Acta 63, 113–127.

Bertin L , 1942. Les anguilles. Payot, Paris, p. 218.

Bertin, L., 1951. Les anguilles. Variation, croissance, euryhalinité, toxicité, hermaphrodisme juvénile et sexualité, migrations, métamorphoses, Bibliothèque scientifique edn. Payot, Paris.

Bielmyer, G.K., Grosell, M., Paquin, P.R., Mathews, R., Wu, K.B., Santore, R.C., Brix, K.V., 2007. Validation study of the acute biotic ligand model for silver. Environ. Toxicol. Chem. 26, 2241–2246.

Bird, D.J., Rotchell, J.M., Hesp, S.A., Newton, L.C., Hall, N.G., Potter, I.C., 2008. To what extent are hepatic concentrations of heavy metals in *Anguilla anguilla* at a site in a contaminated estuary related to body size and age and reflected in the metallothionein concentrations? Environ. Pollut. 151, 641–651.

Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Anschutz, P., 1999. A cadmium budget for the Lot–Garonne fluvial system (France). Hydrobiologia 410, 331–341.

Blaser, S.A., Scheringer, M., Mcleod, M., Hungerbuhler, K., 2008. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles. Sci. Total Environ. 390, 396–409.

Bloom, N.S., Lasorsa, B.K., 1999. Changes in mercury speciation and the release of methyl mercury as a result of marine sediment dredging activities. Sci. Total. Environ. 237/238, 379-385.

Borchardt, T., 1983. Influence of food quantity on the kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*. Mar. Biol. 76, 67–76.

Bossy, C., Blanc, G., Coynel, A., Lavaux, G., Derriennic, H., Girardo, N., Maneux, E., Dutruch, L., Schäfer, J. (2010). Evolution de la pollution cadmifère dans le bassin de Decazeville (1999-2010) : effet de la remédiation sur un des sites les plus pollués à l'échelle européenne. 23ème Réunion des Sciences de la Terre, Bordeaux, France.

Boutier, B., 1981. Synthèse des résultats de la surveillance des micropolluants dans la matière vivante. Ministère de l'Environnement. Bulletin du Réseau National d'Observation 17, 115-174.

Boutier, B., Chiffoleau, J.F., Jouanneau, J.M., Latouche, C., Phillips, I., 1989. La contamination de la Gironde par le cadmium: origine, extension, importance. Scientific and technical report, Ifremer 14.

Boyle, E.A., Collier, R., Dengler, A.T., Edmond, J.M., Ng, A.C., Stallard, R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. Geochim. Cosmochim. Acta 38, 1719–1728.

Boyle, E.A., Edmond, J.M., 1977. Determination of copper, nickel, and cadmium in sea water by APDC chelate coprecipitation and flameless atomic absorption spectrometry. Anal. Chim. Acta 91, 189–197.

Boyle, E.A., Huested, S.S., Grant, B., 1982. The chemical mass balance of the Amazon plume-II. Copper, nickel and cadmium. Deep Sea Res. 29, 1355–1364.

BRGM-Bureau de Recherches Géologiques et Minières, 1978. Cartes des gîtes minéraux de la France 1/500 000, feuille Lyon. Service Géologique National.

BRGM-Bureau de Recherches Géologiques et Minières, 1980. Cartes des gîtes minéraux de la France 1/500 000, feuille Marseille. Service Géologique National.

BRGM-Bureau de Recherches Géologiques et Minières, 1983. Cartes des gîtes minéraux de la France 1/500 000, feuille Bordeaux. Service Géologique National.

BRGM-Bureau de Recherches Géologiques et Minières, 1985. Cartes des gîtes minéraux de la France 1/500 000, feuille Toulouse. Service Géologique National.

Bril, H., Floc'h, J.P., 2001: Le devenir des métaux provenant des anciennes mines ; l'exemple du Massif Central français. Géologues 130-131, 233–241.

Bril, H.; Marignac, C.; Cathelineau, M.; Tollon, F.; Cuney, M.; Boiron, M.C., 1994. Metallogenesis of the Frensh Massif Central: time-space relationships between ore deposition and tectonomagnetic events. In: Keppie, D. (Ed.). Pre-Mesozoic geology in France and related areas, Springer-Verlag, pp. 379–402.

Bruland, K.W., Coale, K.H., Mart, L., 1985. Analysis of seawater for dissolved cadmium, copper, and lead: an intercomparison of voltametric and atomic absorption methods. Mar. Chem. 17, 285–300.

Bruland, K.W., Franks, R.P., Knauer, G.A., Martin, J.H., 1979. Sampling and analytical methods for the determination of copper, cadmium, zinc and nickel at the nanogram per liter level in sea water. Anal. Chim. Acta 105, 233–245.

Bryan, G.W., 1984. Pollution due to heavy metals and their compounds. In: Kinne, O. (Ed.). Marine Ecology, volume 5, part 3. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, pp. 1289–1431.

Bryan, G.W., Langston, W.J., 1992: Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: A review. Environ. Pollut. 76, 89–131.

Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Pierard, C., Garrigues, P., 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. Mar. Chem. 58, 85–97.

Budzinski, H, Togola, A., 2006. Présence des résidus de médicaments dans les différents compartiments du milieu aquatique. Environnement, Risques & Santé 5, 248-253.

Bury, N.R., Wood, C.M., 1999. Mechanism of branchial apical silver uptake by rainbow trout is via the proton-coupled Na+ channel. Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. 277, 1385–1391.

C

Callender, E., 2000. Geochemical effects of rapid sedimentation in aquatic systems: minimal diagenesis and the preservation of historical metal signatures. J. Paleolimnol. 23, 243–260.

Calmon, P., Garnier-Laplace, J., Fortin, C., 2002. Argent 110m et environnement. IRSN, Direction de l'environnement et de l'intervention – Service d'étude du comportement des radionucléides dans les écosystèmes, pp. 15.

Campbell, P.G.C., 1995. Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In: Tessier, A., Turner, D.R. (Eds.). Metal Speciation and Bioavailability on Aquatic Systems. John Wiley & Son, Chichester, pp. 45–102.

Cantillo, A.Y., 1998. Comparison of Results of Mussel Watch Programs of the United States and France with Worldwide Mussel Watch Studies. Mar. Pollut. Bull. 36, 712–717.

Castaing, P., 1981. Le transfert à l'océan des suspensions estuariennes. Le cas de la Gironde, Thèse d'Etat, Université Bordeaux 1, pp. 530.

Castaing, P., Etcheber, H., Sottolichio, A., Cappe, R., 2006. Evolution hydrosédimentaire du système Garonne-Gironde au cours du dernier siècle. Exploitation des données d'archives. Rapport pour l'Agence de l'Eau Adour-Garonne, pp. 48.

Castaing, P., Jouanneau, J.M., 1979. Temps de résidence des eaux et des suspensions dans l'estuaire de la Gironde. J. Rech. Océanogr. IV, 41–52.

Castaing, P., Jouanneau, J.M, Prieur, D., Rangel-Davalos, C., Romana, L.A., 1984. Variations spatio-temporelles de la granulométrie des suspensions de l'estuaire de la Gironde. J. Rech. Océanogr. 9, 115–119.

Castel, J., 1995. Long-term changes in the population of *Eurytemora affinis* (Copepoda, Calanoida) in the Gironde estuary (1978–1992). Hydrobiologia 311, 85–101.

Castellano, J.J., Shafii, S.M., Ko, F., Donate, G., Wright, T.E., Mannari, R.J., Payne, W.G., Smith, J.D., Robson, M.C., 2007. Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. Int. Wound J. 4, 114–122.

Castelle, S., Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Etcheber, H., Lissalde, J.-P., 2007. 50-year record and solid state speciation of mercury in natural and contaminated reservoir sediment. Appl. Geochem. 22, 1359–1370.

CEC. 2000. Directive of the European parliament and of the council 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of water policy. Official Journal of the European Communities L 327/1, pp. 72.

Chiffoleau, J.F., Auger, D., Roux, N., Rozuel, E., Santini, A., 2005. Distribution of silver in mussels and oysters along the French coasts: Data from the national monitoring program. Mar. Pollut. Bull. 50, 1719–1723.

Chudd, J.M., 1983. Measurement of pAg in natural water samples. Environ. Toxicol. Chem. 2, 315–323.

Claisse D., 1989. Chemical contamination of French coasts. The results of a ten years mussel watch. Mar. Pollut. Bull. 20, 523–528.

Colvin, V.L., 2003. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. Nat. Biotechnol. 21, 1166–1170.

Comité Sécurité Alimentaire de l'Aprifel, 2001. Les boues d'épuration : Document de synthèse, pp.42.

Connell, D.B., Sanders, J.G., Riedel, G.F., Abbe, G.R., 1991. Pathways of silver uptake and trophic transfer in estuarine organisms. Environ. Sci. Technol. 25:921–924.

Costanza, R., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., van den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. Nature 387, 253–260.

Cowan, C.E., Jenne, E.A., Crecelius, E.A., 1985. Silver speciation in seawater: the importance of sulphide and organic complexes. In: Sigleo, A.C., Hattori, A. (Eds.). Marine and Estuarine Geochemistry. Lewis Publishers Inc, Michigan, pp. 285–303.

Coynel, A., Schäfer, J., Blanc, G., Bossy, C., 2007. Scenario of particulate trace metal and metalloid transport during a major flood event inferred from transient geochemical signals. Appl. Geochem. 22, 821–836.

Coynel, A., Schäfer, J., Hurtrez, J.-E., Dumas, J., Etcheber, H., Blanc, G., 2004. Sampling frequency and accuracy of SPM flux estimates in two contrasted drainage basins. Sci. Total Environ. 330, 233–247.

D

Dangoumau, A., Laville, M., Dangoumau, N., Bardy, M., 1964. Assainissement de Bordeaux, étude de la Garonne et des égouts. Rapport du Lab. Municipal de Bordeaux, 3t.

Daverat, F., Limburg, K.E., Thibault, I., Shiao, J.-C., Dodson, J.J., Caron, F., Tzeng, W.-N., Iizuka, Y., Wickström, H., 2006. Phenotypic plasticity of habitat use by three temperate eel species, *Anguilla anguilla*, *A. japonica* and *A. rostrata*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 308, 231–241.

Daverat, F., Tomás, J., 2006. Tactics and demographic attributes in European eel *Anguilla anguilla* in the Gironde watershed, SW France. Mar. Ecol. Prog. Ser. 307, 247–257.

David, V., 2006. Variabilité spatio-temporelle du zooplancton dans l'estuaire de la Gironde et implications au sein du réseau trophique planctonique. Thèse, Université Bordeaux 1.

Davis, J.A., 1977. Adsorption of Trace Metals and Complexing Ligands at the Oxide/Water Interface. PhD thesis, Stanford University, Stanford, California, pp. 176.

Deslous-Paoli, J.M., Héral, M., 1988. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* cultured in the Bay of Marennes-Oléron. Aquat. Liv. resources 1, 239–249.

Deslous-Paoli, J.M., Héral, M., Boromthanarat, W., Razet, D., Garnier, J., Prou, J., Barillé, L., 1987. Evolution saisonnière de la filtration de bivalves intertidaux dans des conditions naturelles. Océanis 13, 575–579.

Dufour, S., 1994. Neuroendocrinologie de la reproduction de l'anguille: de la recherche fondamentale aux problèmes appliqués. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture 335, 187-211.

Durif, C., Dufour, S., Elie, P., 2005. The silvering process of *Anguilla anguilla* : a new classification from the yellow resident to the silver migrating stage. J. Fish Biol. 66, 1025-1043.

E

Eisler, R., 1996. Silver hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Contaminant Hazard Reviews, Report No.32.

Elbaz-Poulichet, F., Garnier, J.M., Guan, D.M., Martin, J.M., Thomas, A.J., 1996. The conservative behaviour of trace metals (Cd, Cu, Ni and Pb) and as in the surface plume of stratified estuaries: example of the Rhone River (France). Estuar. Coast. Shelf Sci. 42, 289-310.

Elie, P., Rochard, E., 1994. Migration des Civelles d'anguilles (*Anguilla anguilla* L.) dans les estuaires, modalités du phénomène et caractéristiques des individus. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture 335, 81–98.

Elliott, M., Ducrotoy, J.-P., 1991. Estuaries and coasts: spatial and temporal intercomparaisons. Fredensberg, Denmark, pp. 390.

Elliott, M. Hemingway, K., 2002. Fishes in estuaries, pp. 656.

Erickson, R.J., Brooke, L.T., Kahl, M.D., Venter, F.V., Harting, S.L., Merkee, T.P., Spephar, R.L., 1998. Effects of laboratory test conditions on the toxicity of silver to aquatic organisms. Environ. Toxicol. Chem. 17, 572–578.

Etchebber, H., 1986. Biogéochimie de la matière organique en milieu estuarien : comportement, bilan, propriétés. Cas de la Gironde. Mémoires de l'institut de géologie du bassin d'Aquitaine, pp. 349.

Etcheber, H., Castaing, P., Schmeltz, M., Cottet, M., Maneux, E., Chabaud, G., 2009a. Réseau MAGEST, Mesures automatisées pour la surveillance de la Gironde : rapport d'activité du 1er novembre 2005 au 31 octobre 2006, Interprétation des données, pp. 46.

Etcheber, H., Castaing, P., Schmidt, S., Maneux, E., Sottolichio, A., Abril, G., Schmeltz, M., Chabaud, G., 2009b. Réseau MAGEST, Mesures automatisées pour la surveillance de la Gironde : rapport d'activité du 1er novembre 2007 au 31 octobre 2008, Interprétation des données, pp. 48.

Ettajani, H., Amiard-Triquet, C., Amiard, J.-C., 1992. Experimental study of two trace metal (Ag, Cu) transfer in a marine trophic chain: water - particles (phytoplankton and sediment) - filter feeding species (*Crassostrea gigas*, Thunberg). Water Air Soil Pollut. 65, 215–236.

F

Fairbridge, R. (1980). The estuary: its definition and geodynamic cycle. In: Olausson, E., Cato, I. (Eds). Chemistry and biogeochemistry of estuaries, Wiley, New York, pp. 1–35.

FAO, 2010. Programme d'Information sur les espèces aquatiques cultivées, http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Crassostrea_gigas/fr. Consulté en septembre 2010.

Fisher, N.S., Bohé , M., Teyssié , J.-L., 1984. Accumulation and toxicity of Cd, Zn, Ag, and Hg in four marine phytoplankters. Mar. Ecol. Prog. Ser. 18, 201–213.

Fisher, N.S., Teyssié, J.-L., Fowler, S.W., Wang, W.X., 1996. The accumulation and retention of metals in mussels from food and water: a comparison of feld and laboratory conditions. Environ. Sci. Technol. 30, 3232±3242

Fisher, N.S., Wang, W.X., 1998. Trophic transfer of silver to marine herbivores: a review of recent studies. Environ. Toxicol. Chem. 17, 562–571.

Flegal, A.R., Brown, C.L., Squire, S., Ross, J.R.M., Scelfo, G.M., Hibdon, S., 2007. Spatial and temporal variations in silver contamination and toxicity in San Francisco Bay. Environ. Res. 105, 34–52.

Flegal, A.R., Sañudo-Wilhelmy, S.A., Scelfo, G.M., 1995. Silver in the eastern Atlantic Ocean. Mar. Chem. 49, 325–320.

Forbes, R. J., 1953. On the Origin of Alchemy. Chymia 4, 1–11.

Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2000. Silver uptake by the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in relation to chemical speciation: Influence of chloride. Environ. Toxicol. Chem. 19, 2769–2778.

Fowler, B.A., Nordberg, G.F., 1986. Silver. *in* L. Friberg, Nordberg, G.F., Vouk, V.B., editors. Handbook on the toxicology of metals. Volume II: specific metals. Elsevier, New York, pp. 521-530.

Froidefond, J.M., Jegou, A.M., Hermida, J., Lazure, P., Castaing, P., 1998. Variability of the Gironde turbid plume by remote sensing. effects of climatic factors. Oceanologica Acta, 21, 191–207.

G

Gagnon, C., Fisher, N.S., 1997. The bioavailability of sediment-bound Cd, Co, and Ag to the mussel *Mytilus edulis*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54, 147–156.

Galvez, F., Hogstrand, C., Wood, C.M., 1998. Physiological responses of juvenile rainbow trout to chronic low level exposures of waterborne silver. Comp. Biochem. Physiol. 119C, 131–137.

Galvez, F., Mayer, G.D., Wood, C.M., Hogstrand, C., 2002. The distribution kinetics of waterborne silver-110m in juvenile rainbow trout. Comp. Biochem. Physiol. 131C, 367–378.

Genin, B., Chauvin, C., Ménard, F., 2003. Cours d'eau et indices biologiques 2ème édition. Educagri éditions, Dijons. pp. 225.

George, S.G., Pirie, B.J.S., Calabrese, A., Nelson, D.A., 1986. Biochemical and ultrastructural observations of long-term silver accumulation in the mussel *Mytilus edulis*. Mar. Environ. Res. 18, 255–265.

GFMS WSS, 2009. World Silver Survey 2009. pp. 42.

GFMS WSS, 2010. The Silver Market in 2010. pp. 21.

Girardin, M., Brosse, L., Sautour, B., Sorbe, J.C., Rochard, E., 2001. Etude de la faune présente sur les sites de dragage et d'immersion des déblais dragués dans l'estuaire de la Gironde. Cemagref Groupement de Bordeaux, Université de Bordeaux et Laboratoire d'Océanographie Biologique pour le port autonome de Bordeaux, Bordeaux.

Gobeil, C., 1999. Silver in Sediments from the St. Lawrence River and Estuary and the Saguenay Fjord. Environ. Sci. Technol. 33, 2953–2957.

Gobeil, C., Rondeau, B., Beaudin, L., 2005. Contribution of municipal effluents to metal fluxes in the St. Lawrence River. Environ. Sci. Technol. 39, 456–464.

Goldschmidt, V.M., 1923. Geochemische Verteilungsgesetze der Element (1). Vidensk. skrifter. 1. Mat. naturv. klasse. 3, pp. 17.

Gonzalez-Ortegon, E., Pascual, E., Cuesta, J.A., Drake, P., 2006. Field distribution and osmoregulatory capacity of shrimps in a temperate European estuary (SW Spain). Estuar. Coast. Shelf Sci. 67, 293–302.

Goosen, N.K., Kromkamp, J., Peene, J., van Rijswijk, P., van Breugel, P., 1999. Bacterial and phytoplankton produciton in the maximum turbidity zone of three European estuaries: the Elbe, Westerschelde and Gironde. J. Mar. Syst. 22, 151–171.

Griscom, S.B., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 2002. Kinetic modeling of Ag, Cd and Co bioaccumulation in the clam *Macoma balthica*: quantifying dietary and dissolved sources. Mar. Ecol. Prog. Ser. 240, 127–141.

Grosell, M., Hogstrand, C., Wood, C.M., Hansen, H.J.M., 2000. A nose-to-nose comparison of the physiological effects of exposure to ionic silver chloride in the European eel (*Anguilla anguilla*) and the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat. Toxicol. 48, 327-342.

Gupta, A., Silver, S., 1998. Silver as a biocide: will resistance become a problem? Nat. Biotechnol. 16, 888.

H

Hamilton, E.I., Minski, M.J., Cleary, J.J., 1972. The concentration and distribution of some stable elements in healthy human tissues from the United Kingdom, Sci. Total Environ. 1, 341-374.

Hayes, M.O., 1975. Morphology of sand accumulations in estuaries. In: Cronin, L.E. (Ed.). Estuarine Research vol. 2, Academic Press, New York, pp. 3–22.

Heip, C.H.R., Goosen, N.K., Herman, P.M.J., Kromkamp, J., Middleburg, J.J., Soetaert, K., 1995. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. In: Ansel, A.D., Gibson, R.N., Barnes, M.B. (Eds). Oceanography and Marine Biology: an annual review, pp. 1–149.

Hintelmann, H., Evans, R.D., 1997. Application of stable isotopes in environmental tracer studies - Measurement of monomethylmercury ($CH3Hg^{+}$) by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation. Fresenius J. Anal. Chem. 358, 378–385.

His, E**.,** 1975. La détection des pontes dans le milieu naturel : application de l'ostréographie à l'étude de la reproduction des huîtres. Haliotis 5, 206–213.

Hogstrand, C., Galvez, F., Wood C.M., 1996. Toxicity, silver accumulation and metallothionein induction in freshwater rainbow trout during exposure to different silver salts. Environ. Toxicol. Chem. 15, 1102–1108.

Hogstrand, C., Grosell, M., Wood, C.M., Hansen, H., 2003. Internal redistribution of radiolabelled silver among tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European eel (*Anguilla anguilla*): the influence of silver speciation. Aquat. Toxicol. 63, 139–157.

Hogstrand, C., Wood, C.M., 1998. Toward a better understanding of the bioavailability, physiology, and toxicity of silver in fish: Implications of water quality criteria. Environ. Toxicol. Chem. 17, 547–561.

Hook, S.E., Fisher, N.S., 2001. Sublethal effects of silver in zooplankton: importance of exposure pathways and implications for toxicity testing. Environ. Toxicol. Chem. 20, 568-574.

Hook, S.E., Fisher, N.S., 2002. Relating the reproductive toxicity to five ingested metals in calanoid copepods with sulfur affinity. Mar. Environ. Res. 53, 161–174.

Hornberger, M.I., Luoma, S.N., Cain, D.J., Parchaso, F., Brown, C.L., Bouse, R.M., Wellise, C., Thompson, J.K., 2000. Linkage of Bioaccumulation and Biological Effects to Changes in Pollutant Loads in South San Francisco Bay. Environ. Sci. Technol. 34, 2401–2409.

Hornberger, M.I., Luoma, S.N., van Geen, A., Fuller, C., Anima, R., 1999. Historical trends of metals in the sediments of San Francisco Bay, California. Mar. Chem. 64, 39–55.

Huerta-Diaz, M.A., Morse, J.W., 1990. A quantitative method for determination of trace metal concentrations in sedimentary pyrite. Mar. Chem. 29, 119–144.

Huerta-Diaz, M.A., Morse, J.W., 1992. Pyritization of trace metals in anoxic marine sediments. Geochim. Cosmochim. Acta 56, 2681–2702.

I

ICES, 2002. ICES/EIFAC Working Group on Eels, International Council for the Exploration of the Sea, Nantes, France, pp. 84.

J

Jansen, H.H., Scholz, N., 1979. Uptake and cellular distribution of cadmium in *Mytilus edulis*. Mar. biol. 55, 133–141.

Johnson, J., Jirikowic, J., Bertram, M., van Beers, D., Gordon, R.B., Henderson, K., Klee, R.J., Lanzano, T., Lifset, R., Oetjen, L., Graedel, T.E., 2005. Contemporary Anthropogenic Silver Cycle: A Multilevel Analysis. Environ. Sci. Technol. 39, 4655-4665.

Jones, K.C., 1986. The distribution and partitioning of silver and other heavy metals in sediments associated with an acid mine drainage stream. Environ. Pollut. Series B, Chemical and Physical 12, 249–263.

Jouanneau, J.M., 1982. Matières en suspension et oligo-éléments métalliques dans le système estuarien Girondin : comportement et flux. Thèse d'état. Université Bordeaux 1, pp. 150.

Jouanneau, J.M., Weber, O., Cremer, M., Castaing, P., 1999. Fine-grained sediment budget on the continental margin of the Bay of Biscay. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 46, 2205–2220.

Jozereau, C., 1997. La production de zinc dans la vallée du Lot depuis le 19ième siècle: conséquences sur l'environnement. Rapport de Maîtrise, 21 pp.

K

Kalnejais, L.H., 2005. Mechanisms of metal release from contaminated coastal sediments. Ph.D. Thesis, Massachusetts Institute of Technology/Woods Hole Oceanographic Institution, USA, pp. 238.

Kalnejais, L.H., Martin, W.R., Bothner, M.H., 2010. The release of dissolved nutrients and metals from coastal sediments due to resuspension. Mar. Chem. 121, 224–235.

Kehoe, R.D., Cholak, J., Story, R.V., 1940. A spectrochemical study of the normal ranges of concentrations of certain trace metals in biological materials, J. Nutrit. 19, 579–592.

Khan S.A., Riaz-ur-Rehman, Khan, M.A., 1995. Adsorption of chromium (III), chromium (VI) and silver (I) on bentonite. Waste Management 15, 271–282.

Kim, E.-H., Mason, R.P., Porter, E.T., Soulen, H.L., 2006. The impact of resuspension on sediment mercury dynamics, and methylmercury production and fate: A mesocosm study. Mar. Chem. 102, 300–315.

Kraepiel, A.M.L., Chiffoleau, J.-F., Martin, J.-M., Morel, F.M.M., 1997. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. Geochim. Cosmochim. Acta 61, 1421–1436.

Kramer, D.L., 1987. Dissolved oxygen and fish behaviour. Environ. Biol. Fishes 18, 81-92.

L

Laffaille, P., Acou, A., Guillouët, J, 2005. The yellow European eel (*Anguilla anguilla* L.) may adopt a sedentary lifestyle in inland freshwaters. Ecol. Freshw. Fish 14, 191–196.

Langston, W.J., Burt, G.R., Pope, N.D., 1999. Bioavailability of metals in sediments of the Dogger Bank (central North Sea): a mesocosm study. Estuar. Coast. Shelf Sci. 48, 519–540.

Langston, W.J., Chesman, B.S., Burt, G.R., Pope, N.D., McEvoy, J., 2002. Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: an indicator of environmental quality? Mar. Environ. Res. 53, 263–293.

Lapaquellerie, Y., Jouanneau, J.M., Maillet, N., Latouche, C., 1995. Pollution en Cd dans les sédiments du Lot (France) et calcul du stock de polluant. Environ. Technol. 16, 1145–1154.

Le Floch, J.F., 1961. Propagation de la marée dynamique dans l'estuaire de la Seine Maritime. Thèse, Université de Paris, pp. 507.

Leblanc, G.A., Mastone, J.D., Paradice ,A.P., Wilson, B.F., Lockhart, Jr., H.B., Robillard, K.A., 1984. The influence of speciation on the toxicity of silver to the fathead minnow (*Pimephales promelus*). Environ. Toxicol. Chem. 3. 37–46.

Lecomte-Finiger, R., 1983. Contribution à la connaissance de l'écobiologie de l'anguille, *Anguilla anguilla* L. 1758, des milieux lagunaires méditerranéens du Golfe du Lion : Narbonnais et Roussillon. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Perpignan.

Lecomte-Finiger, R., 1990. Métamorphose de l'anguille jaune en anguille argentée *Anguilla anguilla* L. et sa migration catadrome. Annales Biologiques, Conseil International de l'Exploration de la Mer 29, 183–194.

Lee, D.Y., Fortin, C., Campbell, P.G.C., 2005. Contrasting effects of chloride on the toxicity of silver to two green algae, *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlamydomonas reinhardtii*. Aquat. Toxicol. 75, 127–135.

Lesueur, P., Jouanneau, J.M., Boust, D., Tastet, J.P., Weber, O., 2001. Sedimentation rates and fluxes in the continental shelf mud fields in the Bay of Biscay (France). Continental Shelf Research 21, 1383–1401.

Lobel, P.B., Belkhode, S.P., Jackson, S.E., Longerich, H.P., 1990. Recent taxonomic discoveries concerning the mussel *Mytilus*: implications for biomonitoring. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 19, 508–512.

Long, E.R., Macdonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D., 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. Environ. Manage. 19, 81–97.

Luoma, S.N., 1989. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? Hydrobiologia 176, 379–396.

Luoma, S.N., Ho, Y.B., Bryan, G.W., 1995. Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. Mar. Pollut. Bull. 31, 44–54.

Luoma, S.N., van Geen, A., Lee, B.-G., Cloern, J.E., 1999. Metal uptake by phytoplankton during a bloom in South San Francisco Bay: Implications for metal cycling in estuaries. Limnol. Oceanogr. 43, 1007–1016.

Lytle, P.E., 1984. Fate and speciation of silver in publicly owned treatment works. Environ. Toxicol. Chem. 3, 21-30.

M

Ma, Y., Uren, N.C., 1995. Application of a new fractionation scheme for heavy metals in soils. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 26, 3291–3303.

Martin, J.-M., Nirel, P., Thomas, A.J., 1987. Sequential extraction techniques: promises and problems. Mar.Chem. 22, 313–341.

Martoja, R., Ballan-Dufrancais, C., Jeantet, A.-Y., 1988. Effets chimiques et cytologiques de la contamination expérimentale de l'huître *Crassostrea gigas* Thunberg par l'argent administré sous forme dissoute et par voie alimentaire. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45, 1827-1841.

Masson, M., 2007. Sources et transferts métalliques dans le basin versant de la Gironde – Réactivité et mécanismes géochimiques dans l'estuaire fluvial de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 344.

Masson, M., Blanc, G., Schäfer, J., 2006. Geochemical signals and source contributions to heavy metal (Cd, Zn, Pb, Cu) fluxes into the Gironde Estuary *via* its major tributaries. Sci. Total Environ. 370, 133–146.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G., Anschutz, P., 2007. Seasonal variations and annual fluxes of arsenic in the Garonne, Dordogne and Isle Rivers, France. Sci. Tot. Environ. 373, 196–207.

Masson, M., Schäfer, J., Blanc, G, Dabrin, A., Castelle, S., Lavaux, G., 2009. Behavior of arsenic and antimony in the surface freshwater reaches of a highly turbid estuary, the Gironde Estuary, France. Appl. Geochem. 24, 1747–1756.

McDonnell, G., Russell, A.D., 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin. Microbiol. Rev. 12, 147–179.

McLaren, R.G., Crawford, D.V., 1973. Studies on soils copper. II. The specific adsorption of copper in soils. J. Soil. Sci. 24, 444–452.

Metayer, C., Amiard-Triquet, C., Baud, J.P, 1990. en Species-related variations of silver bioaccumulation and toxicity to three marine bivalves. Water Res. 24, 995–1001.

Meunier, F.J., 1994. Données sur la croissance de l'anguille (*Anguilla anguilla L.*) dans le cours moyen du Rhin, région alsacienne. Bull. Fr. Pêche Piscic. 335, 133–144.

Meybeck, M., Cauwet, G., Dessery, S., Somville, M., Gouleau, D., Billen, G., 1988. Nutrients (organic C, P, N, Si) in the eutrophic River Loire (France) and its estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 27, 595–624.

Meybeck, M., Ragu, A., 1996. River discharges to the Oceans. An assessment of suspended solids, major ions, and nutrients. Environment Information and Assessment Rpt, Nairobi, UNEP.

Michel, P., Boutier, B., Chiffoleau, J.-F., 2000. Net Fluxes of Dissolved Arsenic, Cadmium, Copper, Zinc, Nitrogen and Phosphorus from the Gironde Estuary (France): Seasonal Variations and Trends. Estuar. Coast. Shelf Sci. 51, 451–462.

MI.GA.DO., 2007a. Restauration et gestion des poissons migrateurs sur les bassins de la Dordogne et de la Garonne. Résumé des actions techniques Année 2007, pp. 24.

MI.GA.DO., 2007b. Lauronce, V., Gracia, S.. Indicang Rapport Final : Etat des lieux de l'anguille européenne *Anguilla anguilla* et de son milieu, Bassin versant Gironde Garonne Dordogne, pp. 51.

Molnár, K., 1993. Effect of decreased oxygen content on eels (*Anguilla anguilla*) infected by *Anguillicola crassus* (Nematode: Dracunculoidea). Acta Vet. Hung. 41, 349-360.

Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., 2004. Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity. Trends. Anal. Chem. 23, 261–272.

Morel, F.M.M., Hering, J.G., 1993. Principles and Applications of Aquatic Chemistry. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Morford, J.L., Kalnejais, L.H., Helman, P., Yen, G., Reinard, M., 2008. Geochemical cycling of silver in marine sediments along an offshore transect. Mar. Chem. 110, 77–88.

Morgan, T.P., Grosell, M., Gilmour, M., Playle, R.C., Wood, C.M., 2004. Time course analysis of the mechanism by which silver inhibits active Na^+ and Cl^- uptake in gills of rainbow trout. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 287, R234–R242.

Morgan, I.J., Henry, R.P., Wood, C.M., 1997. The mechanism of acute silver nitrate toxicity in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is inhibition of gill Na^+ and Cl^- transport. Aquat. Toxicol. 38, 145–163.

Morse, J.W., Luther III, G.W., 1999. Chemical influences on trace metal-sulfide interactions in anoxic sediments. Geochim. Cosmochim. Acta 63, 3373–3378.

Müller, J., Ruppert, H., Muramatsu, Y., Schneider, J., 2000. Reservoir sediments: a witness of mining and industrial development (Malter Reservoir, eastern Erzgebirge, Germany). Environ. Geol. 39, 1341–1351.

N

Nagy-Breitenstein, G., 1993. Analyse quantifiée de l'évolution hydromorphologique séculaire de l'estuaire amont de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 193.

Ndung'u, K., Ranville, M.A., Franks, R.P., Flegal, A.R., 2006. On-line determination of silver in natural waters by inductively-coupled plasma mass spectrometry: Influence of organic matter. Mar. Chem. 98, 109–120.

Ndung'u, K., Thomas, M.A., Flegal, A.R., 2001. Silver in the western equatorial and South Atlantic Ocean. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 48, 2933–2945.

O

O'Connor, T.P. 1992. Mussel Watch: Recent Trends in Coastal Environmental Quality. NOAA Rockville, MD, pp. 46.

O'Connor, T.P., 1993. The NOAA National Status and Trends Mussel Watch Program: national monitoring of chemical contamination in the coastal United States. In Cothern, C.R., Ross, N.P. (Eds). Environmental Statistics, Assessment and Forecasting, Lewis PUN., Boca Raton, FL.

Olsen, C.R., Cutshall, N.H., Larsen, I.L., 1982. Pollutant-particle associations and dynamics in coastal marine environments : a review. Mar. Chem. 11, 501–533.

Owen, R., Handy, R., 2007. Viewpoint: formulating the problems for environmental risk assessment of nanomaterials. Environ. Sci. Technol. 41, 5582–5588.

P

Páez-Osuna, F., Frías-Espericueta, M.G., Osuna-López J.I., 1995. Trace metal concentrations in relation to season and gonadal maturation in the oyster *Crassostrea iridescens*. Mar. Environ. Res. 40, 19–31.

Palstra, A.P., van Ginneken, V.J.T., Murk, A.J., van den Thillart, G.E.E.J.M., 2006. Are dioxin-like contaminants responsible for the eel (*Anguilla anguilla*) drama? Naturwissenschaften 93, 145–148.

Parker, S.J., 1995. Homing ability and home range of yellowphase American eels in a tidally dominated estuary. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 75, 127–140.

Parra, M., Castaing, P., Jouanneau, J.M., Grousset, F., Latouche, C., 1998. Nd-sr isotopic composition of present-day sediments from the Gironde Estuary, its draining basins and the WestGironde mud patch (SW France). Continental Shelf Research 19, 135–150.

Pasquaud, S., 2006. Les relations trophiques : éléments de structuration des peuplements ichtyologiques en milieu estuarien. Application à l'estuaire de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 360.

Pasquaud, S., Elie, P., Jeantet, C., Billy, I., Martinez, P., Girardin, M., 2008. A preliminary investigation of the fish food web in the Gironde estuary, France, using dietary and stable isotope analyses. Estuar. Coast. Shelf Sci. 78, 267–279.

Petering, H.G., McClain, C.J., 1991. Silver. In: Merian, E. (Ed.). Metals and their compounds in the environment. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Pickering, W.F., 1986. Metal ion speciation; soils and sediments (a review). Ore Geol. Rev. 1, 83–146.

Pierron, F., 2007. Etudes des mécanismes de bioaccumulation du cadmium et des effets toxiques associés à différents stades de vie de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.). Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 286.

Pierron, F., Baudrimont, M., Bossy, A., Bourdineaud, J.-P., Brethes, D., Elie, P., Massabuau, J.-C., 2007. Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*). Aquat. Toxicol. 81, 304–311.

Plan de gestion anguille de la France, volet local Garonne-Dordogne-Charente-Seudre-Leyre, 2010. Application du règlement R(CE) n°1100/2007 du 18 septembre 2007, pp. 39.

Pritchard, D., 1955. Estuarine circulation processes. Proc. Am. Soc. Civil. Eng. 81, 1–11.

Purcell, T.W., Peters, J.J., 1998. Sources of silver in the environment. Environ. Toxicol. Chem. 17, 539–546.

Q

Quayle, D.D., 1969. Pacifie oyster culture in British Columbia. Fisheries Research Board of Canada 169, pp. 193.

Quevauviller, P., 1998. Operationally-defined extraction procedures for soil and sediment analysis. Part 1. Standardization. Trends Anal. Chem. 17, 289–298.

R

Rabiet, M., Margoum, C., Gouy, V., Carluera, N., Coquery, M., 2010. Assessing pesticide concentrations and fluxes in the stream of a small vineyard catchment – Effect of sampling frequency. Environ. Pollut. 158, 737–748.

Rainbow, P.S., 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. Mar. Pollut. Bull. 31, 183–192.

Raiswell, R., Canfield, D.E., Berner, R.A., 1994. A comparison of iron extraction methods for the determination of degree of pyritization and the recognition of iron limited pyrite formation. Chem. Geol. 111, 101–110.

Ranville, M.A., Flegal, A.R., 2005. Silver in the North Pacific Ocean. Geochemistry, Geophysics, Geosystems 6, 1–12.

Ratte, H.T., 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. Environ. Toxicol. Chem.18, 89–108.

Reinfelder, J.R., Chang, S.I., 1999. Speciation and microalgal bioavailability of inorganic silver. Environ. Sci. Technol. 33, 1860–1863.

Renault, S. Etude écotoxicologique de l'impact de la contamination métallique de l'anguille européenne *Anguilla anguilla* vivant dans l'estuaire de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1, en préparation.

Richards, R.M.E., 1981. Antimicrobial action of silver-nitrate. Microbios 31, 83–91.

Riisgård, H.U., Bjørnestad, E., Møhlenberg, F., 1987. Accumulation of cadmium in the mussel *Mytilus edulis*: kinetics and importance of uptake *via* food and seawater. Mar. Biol. 96, 349–353.

Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., 1997. Pore-water silver concentration gradients and benthic fluxes from contaminated sediments of San Francisco Bay, California, U.S.A.. Mar. Chem. 56, 15–26.

Rivera-Duarte, I., Flegal, A.R., Sañudo-Wilhelmy, S.A., Véron, A.J., 1999. Silver in the far North Atlantic Ocean. Deep Sea Res. Part 2 46, 979–990.

RNO/ROCCH (2008). Qualité du Milieu Marin Littoral Bulletin de la surveillance Départements : Gironde, Landes, Pyrénées Atlantiques, pp. 83.

Robert, S., 2003. Bilan géochimique des élements traces métalliques dans l'estuaire de la Gironde. Réactivité interne et anthropisation. Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 342.

Robert, S., Blanc, G., Schäfer, J., Lavaux, G., Abril, G., 2004. Metal mobilization in the Gironde Estuary (France): The role of the soft mud layer in the maximum turbidity zone. Mar. Chem. 87, 1–13.

Robinet, T., Feunteun, E. 2002. Sublethal effects of exposure to chemical compounds: a cause for the decline in Atlantic eels? Ecotoxicol. 11, 265–277.

Rodgers, Jr., J.H., Deaver, E., Rogers, P.L., 1997. Partitioning and Effects of Silver in Amended Freshwater Sediments. Ecotoxicol. Environ. Saf. 37, 1–9.

Rodgers, Jr., J.H., Deaver, E., Suedel, B.C., Rogers, P.L., 1997. Comparative Aqueous Toxicity of Silver Compounds: Laboratory Studies with Freshwater Species. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58, 851–858.

Rosenberg, E., Ariese, F., 2001. Quality control in speciation analysis. In Trace element speciation for environment, food and health. Ebdon, L., Pitts, L., Cornelis, R., Crews, H., Donard, O.F.X. Quevauviller, Ph. (Eds). The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Roux, M., Simonet, F., 1987. Pollutions accidentelles du Lot: flux polluant. Revue de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne 34, 7–9.

Rozan, T.F., Hunter, K.S., 2001. Effects of discharge on silver loading and transport in the Quinnipiac River, Connecticut. Sci. Total Environ. 279, 195–205.

S

Salomon, J.-N., 2002. L'inondation dans la basse vallée de la Garonne et l'estuaire de la Gironde lors de la "tempête du siècle" (27-28 décembre 1999) / Flooding in the Garonne valley and the Gironde estuary caused by the "storm of the century" (27-28 décember 1999). Géomorphologie : relief, processus, environnement 8, 127–134.

Sanders, J.G., Abbe, G.R., Riede, G.F., 1990. Silver uptake and subsequent effects on growth and species composition in an estuarine community. Sci. Total Environ. 97-98, 761–769.

Santschi, P.H., Lenhart, J.J., Honeyman, B.D., 1997. Heterogeneous processes affecting trace contaminant distribution in estuaries: the role of natural organic matter. Mar. Chem. 58, 99-125.

Sañudo-Wilhelmy, S.A., Flegal, A.R., 1992. Anthropogenic silver in the southern California Bight. Environ. Sci. Technol. 26, 2147–2151.

Schäfer, J., Blanc, G., 2002. Relationship between ore deposits in river catchments and geochemistry of suspended particulate matter from six rivers in southwest France. Sci Total Environ. 298, 103–118.

Schäfer, J., Blanc, G., Audry, S., Cossa, D., Bossy, C., 2006. Mercury in the Lot-Garonne River system (France): Sources, fluxes and anthropogenic component. Appl. Geochem. 21, 515–527.

Schäfer, J.; Blanc, G.; Lapaquellerie, Y.; Maillet, N.; Maneux, E.; Etcheber, H., 2002: Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. Mar. Chem. 79, 229–242.

Schmidt, J., 1922. The breeding places of the eel. Philosophical Transactions of the Royal Society 211, 179–208.

Shafer, M.M., Overdier, J.T., Armstrong, D.E., 1999. Removal, partitioning and fate of silver and other metals in wastewater treatment plants and effluent-receiving streams. Environ. Toxicol. Chem. 17, 630–641.

Sivry, Y., Riotte, J., Sonke, J.E., Audry, S., Schäfer, J., Viers, J., Blanc, G., Freydier, R., Dupré, B., 2008. Zn isotopes as tracers of anthropogenic pollution from Zn-ore smelters The Riou Mort–Lot River system. Chem. Geol. 255, 295–304.

Slaveck, J., Wold, J., Pickering, W.F., 1982. Extraction of metal ions associated with humic acids. Talanta 29, 743–750.

Smith, I.C., Carson, B.L., 1977. Trace metals in the environment. Vol. 2: Silver. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich. 469 pp.

Smith, G.J., Flegal, A.R., 1993. Silver in San Francisco Bay estuarine waters. Estuaries and Coasts 16, 547–558.

Soletchnik, P., Prou, J., Heral, M., Barille, L., Razet, D., Guezennec, L. 1991. Influence de la charge particulaire sur la filtration d'une population d'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin estuarien de Marennes-Oléron (France) : Analyse de deux cycles de marée. Conseil international pour l'Exploitation de la Mer, pp. 6.

Sonke, J.E., Schäfer, J., Chmeleff, J., Audry, S., Blanc, G., Dupre, B., 2010. Sedimentary mercury stable isotope records of atmospheric and riverine pollution from two major European heavy metal refineries. Chem. Geol. 279, 90-100.

Sottolichio, A., 1999. Modélisation de la modélisation des structures turbides (bouchon vaseux et crème de vase) dans l'estuaire de la Gironde. Thèse, Université Bordeaux 1.

Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde Estuary. Comptes Rendus De l'Académie De Sciences - Série IIa: Sciences De La Terre Et Des Planètes, 329, 795–800.

Squire, S., Selfo, G.M., Revenaugh, J., Flegal, A.R., 2002. Decadal trends of silver and lead contamination in San Francisco Bay surface waters. Environ. Sci. Technol. 36, 2379–2386.

STECF, 2006. Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries of the Commission of the European Communities. 22nd Report of STECF, Draft Version 27.

Strady, E., 2010. Mécanismes biogéochimiques de la contamination des huîtres *Crassostrea gigas* en Cadmium en baie de Marennes Oléron. Thèse, Université Bordeaux 1, pp. 293.

T

Tappin, A.D., Barriada, J.L., Braungardt, C.B., Evans, E.H., Patey, M.D., Achterberg, E.P., 2010. Dissolved silver in European estuarine and coastal waters. Water Res. 44, 4204–4216.

Tessier, A., Campbell, P.G.C., Bisson, M., 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Anal. Chem., 51: 844–851.

Tessier, D., 2002. Soil - an exchange and transfer medium. Consequences of soil use by humans: A French Example. Revue des Sciences de l'Eau 15, 9–26.

Tesch, F.-W., 2003. The eel, Thorpe, J. E. edn. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

The Silver Institute. http://www.silverinstitute.org/. Accédé en 2010.

Thiel, R., Sepúlveda, A., Kafemann, R., Nellen, W., 1995. Environmental factors as forces structuring the fish community of the Elbe Estuary. J. Fish Biol. 46, 47–69.

Thompson, C.M., 2003. Sealed Silver in iron age cisjordan and the 'invention' of coinage. Oxford J. Archaeol. 22, 67–107.

Tremblay, R., Roussy, M., Cusson, M., 2004. Modélisation du potentiel dépuration de la moule bleue (*Mytilus* spp.) en eau froide et en réaction à un choc thermique. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation Cahier d'information 143, pp. 42.

Tripton, I.H., Cook, M.J., 1963. Trace elements in human tissue, Part II. Adult subjects from the United States Health Phys. 9, 103-145.

U

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1980. Ambient water quality criteria for silver. U.S. Environmental Protection Agency Report 440/5-80-071. 212 pp.

U.S. Geological Survey (USGS). Mineral Commodity Summaries, January 2008. Reston, VA.

U.S. Public Health Service (PHS), 1990. Toxicological profile for silver. Agency for Toxic Substances and Disease Registry TP-90-24, pp. 145.

V

Valette-Silver, N.J., 1993. The Use of Sediment Cores to Reconstruct Historical Trends in Contamination of Estuarine and Coastal Sediments. Estuaries 16, 577–588.

Vazquez, F.G., Sharma, V.K., Mendoza, Q.A., Hernandez, R., 2001. Metals in Fish and Shrimp of the Campeche Sound, Gulf of Mexico. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 67, 756-762.

Veyssy, E., 1998. Transferts de matières organiques des basins versants aux estuaries de la Gironde et de l'Adour (sud-ouest de la France). Thèse d'Etat, Université Bordeaux 1, pp. 283.

Vollestad, L.A., 1992. Geographic variation in age and length at metamorphosis of maturing European eel - Environmental effects and phenotypic plasticity. J. Anim. Ecol. 61, 41–48.

W

Walling, D.E., Webb, D.W., 1985. Estimating the discharge of contaminants to coastal waters by rivers. Mar. Pollut. Bull. 16, 488–492.

Walne, P.R., 1974. Culture of Bivalve molluscs: 50 years experience at Conway. Fishing New Books, pp. 191.

Wang, W.-X., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 1995. Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis*: effects of algal food abundance. Mar. Ecol. Prog. Ser. 129, 165–176.

Wang, W.X., Fisher, N.S., Luoma, S.N., 1996. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 140, 91–113.

Weber, O., Jouanneau, J.M., Ruch, P., Mirmand, M., 1991. Grain-size relationship between suspended matter originating in the Gironde Estuary and shelf mud-patch deposits. Mar. Geol. 96, 159–165.

Wedepohl, K.H., 1995. The composition of the continental crust. Geochim. Cosmochim. Acta 59, 1217–1232.

Wen, L.-S., Santschi, P.H., Gill, G.A., Paternostro, C.L., Lehman, R.D., 1997. Colloidal and particulate silver in river and estuarine waters of Texas. Environ. Sci. Technol. 31, 723–731.

Wen, L.-S., Santschi, P.H., Gill, G.A., Tang, D.G., 2002. Silver concentrations in Colorado, USA, watersheds using improved methodology. Environ. Toxicol. Chem. 21, 2040–2051.

WFD–CIS, 2003. Water Framework Directive Common Implementation Strategy, Working Group 2.7, Monitoring, Guidance on Monitoring for the Water Framework Directive, Final Version, 23.

WG Eel. 2006. FAO European Inland Fisheries Advisory Commission, and the International Council for the Exploration of the Sea. Report of the 2006 session of the Joint EIFAC/ICES Working Group on Eels, Rome, pp. 352.

Wilson, J.G., 2002. Productivity, Fisheries and Aquaculture in Temperate Estuaries. Estuar Coast Shelf Sci 55, 953–967.

Winnacker, K., Küchler, L., 2006. Chemische Technik. Prozesse und Produkte. Band 6b: Metalle. 5th Edition. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.

Wisniewski, J., Sax, R.I., 1979. Silver Concentration in Rainwater from Seeded and Nonseeded Florida Cumuli: 1973–1975 Results. J. Appl. Meteorol. 18, 1044–1055.

Wood, C.M., Grosell, M., Hogstrand, C., Hansen, H., 2002. Kinetics of radiolabelled silver uptake and depuration in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European eel (*Anguilla anguilla*): the influence of silver speciation. Aquat. Toxicol. 56, 196–213.

Wood, C.M., Hogstrand, C., Galvez, F., Munger, R.S., 1996. The physiology of waterbone silver toxicity in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): 2. The effects of silver thiosulfate. Aquat. Toxicol. 35, 111–125.

Wood, C.M., Munger, S., Galvez, F., Hogstrand, C., 1994. The physiology of silver toxicity in freshwater fish. Pages 109-114 *in* A. W. Andren, T. W. Bober, J. R. Kramer, A. Sodergren, E. A. Crecelius, S. N. Luoma, and J. H. Rodgers, organizers. Transport, fate and effects of silver in the environment. Proceedings of the 2nd international conference. University of Wisconsin Sea Grant Institute, Madison.

Wu, J. The Mineral Industries of Cambodia and Laos; UnitedStates Geological Survey, 2003.

X

Xu, Y., Wang, W.X., 2004. Silver uptake by marine diatom an dits transfer to the coastal copepod *Acartia spinicauda*. Environ. Toxicol. Chem. 23, 682–690.

Y

Yang, L., Sturgeon, R.E.J., 2002. On-line determination of silver in sea-water and marine sediment by inductively coupled plasma-mass spectrometry. J Anal At Spectrom 17, 88–93.

Yilmaz, A.B., Yilmaz, L., 2007. Influences of sex and seasons on levels of heavy metals in tissues of green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus* de Hann, 1844). Food Chem. 101, 1664-1669.

Z

Zhang, Y., Obata, H., Nozaki, Y.I., 2004. Silver in the Pacific Ocean and the Bering Sea. Geochem J 38, 623–633.